



## **Elementos traza y nutrientes en plantas y suelos afectados por el vertido minero de Aznalcóllar**



### **Tesis Doctoral**

**Paula Madejón Rodríguez    Marzo 2004**



***ELEMENTOS TRAZA Y NUTRIENTES EN  
PLANTAS Y SUELOS AFECTADOS POR  
EL VERTIDO MINERO DE  
AZNALCÓLLAR***

**Memoria que presenta**

**Paula Madejón Rodríguez  
para optar al título de Doctor en  
Biología por la Universidad de  
Sevilla**

**Marzo 2004**

***ELEMENTOS TRAZA Y NUTRIENTES EN  
PLANTAS Y SUELOS AFECTADOS POR  
EL VERTIDO MINERO DE  
AZNALCÓLLAR***

Visado en Sevilla, a 18 de Enero de 2003

LOS DIRECTORES

Dr D. JOSÉ MANUEL MURILLO CARPIO  
Investigador Científico del CSIC

Dr. D. TEODORO MARAÑÓN ARANA  
Científico Titular del CSIC

EL TUTOR

Dra Dña. MARIA LUZ MATO IGLESIAS

Catedrática (EU) del departamento de Química  
Agrícola y Cristalografía. Universidad de Sevilla

Memoria que presenta

Dña. Paula Madejón Rodríguez  
Para optar al grado de Doctor en Biología

DOCTOR D. LUIS CLEMENTE SALAS, DIRECTOR DEL INSTITUTO DE  
RECURSOS NATURALES Y AGROBIOLOGÍA DE SEVILLA DEL CONSEJO  
SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Certifica: Que la presente Memoria de Investigación titulada "ELEMENTOS  
TRAZA Y NUTRIENTES EN PLANTAS Y SUELOS AFECTADOS POR EL VERTIDO  
MINERO DE AZNALCÓLLAR", presentada por Dña. Paula Madejón Rodríguez  
para optar al grado de Doctor en Biología, ha sido realizada en el  
Departamento de Sostenibilidad del Sistema Suelo-Planta-Atmósfera, bajo  
la dirección de los Drs. D. José Manuel Murillo Carpio y D. Teodoro Marañón  
Arana, reuniendo todas las condiciones exigidas a los trabajos de Tesis  
Doctoral.

En Sevilla, a 18 de Enero de 2004



LA DOCTORA Dña. MARIA LUZ MATO IGLESIAS, CATEDRÁTICA (EU) DEL DEPARTAMENTO DE QUIMICA AGRÍCOLA Y CRISTALOGRAFÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

Certifica: Que la presente Memoria de Investigación titulada "ELEMENTOS TRAZA Y NUTRIENTES EN PLANTAS Y SUELOS AFECTADOS POR EL VERTIDO MINERO DE AZNALCÓLLAR", presentada por Dña. Paula Madejón Rodríguez para optar al grado de Doctor en Biología, ha sido realizada en el Departamento de Sostenibilidad del Sistema Suelo-Planta-Atmósfera, bajo la dirección de los Drs. D. José Manuel Murillo Carpio y D. Teodoro Marañón Arana, reuniendo todos los requisitos exigidos por la legislación vigente a los trabajos de Tesis Doctoral.

En Sevilla, a 18 de Enero de 2004

El presente trabajo se ha realizado en el marco del **CONVENIO ESPECÍFICO CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE (JUNTA DE ANDALUCÍA – CSIC) PARA EL SEGUIMIENTO DE SERES VIVOS EN EL ÁREA AFECTADA POR EL VERTIDO DE LAS MINAS DE BOLIDEN - APIRSA, S. L.**, dentro del PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN DEL CORREDOR VERDE DEL GUADIAMAR (**PICOVER**) (Línea de Investigación 1: Seguimiento, Vigilancia, Control y Remediación de la Contaminación Generada por el Vertido Minero).

## **ÍNDICE DE CONTENIDOS**

<b><u>1. INTRODUCCIÓN</u></b>	1
1.1. EL ACCIDENTE MINERO DE AZNALCÓLLAR	1
1.1.1. Descripción del accidente	1
1.1.2. Características del vertido	3
1.1.3. Contaminación de los suelos y evolución del lodo pirítico	4
1.1.4. Labores de recuperación de los suelos	7
1.1.5. Contaminación residual de los suelos tras las labores de limpieza	11
1.2. ELEMENTOS TRAZA EN SUELOS	13
1.2.1. Dinámica de elementos traza en los suelos	15
1.3. ELEMENTOS TRAZA EN PLANTAS	18
1.3.1. Elemento traza: concepto y definición	18
1.3.2. Fitotoxicidad ocasionada por elementos traza	20
1.3.2.1. Fitotoxicidad	20
1.3.2.2. Efectos a nivel celular y subcelular	22
1.3.3. Mecanismos de resistencia en plantas superiores	25
1.3.3.1. Verdaderos mecanismos de exclusión	27
1.3.3.2. Mecanismos de exclusión/tolerancia	28
1.3.4. Verdaderos mecanismos de tolerancia	30
1.3.4.1. Fitoquelatinas	31
1.3.4.2. Ácidos orgánicos	33
1.3.4.3. Transporte y acumulación en vacuolas	34
1.3.4.4. Enzimas resistentes a los metales	34
1.4. BIODIVERSIDAD VEGETAL BASADA EN MECANISMOS DE RESISTENCIA	35
1.5. RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR ELEMENTOS TRAZA	39
<b><u>2. OBJETIVOS</u></b>	44
<b><u>3. AREA DE ESTUDIO</u></b>	46
<b><u>4. MÉTODOS GENERALES</u></b>	51
4.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	51
4.1.1. Preparación de muestras de suelo	51
4.1.2. Preparación del material vegetal	52
4.2. DETERMINACIONES ANALÍTICAS	52
4.2.1. Determinaciones analíticas en suelos	52
4.2.2. Determinaciones analíticas en plantas	57
4.3. CUANTIFICACIÓN GLOBAL DE LA CONTAMINACIÓN DE SUELOS	58
4.4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS	58

<b>5. CAMBIOS ESPACIO-TEMPORALES EN EL SISTEMA SUELO-PLANTA .....</b>	<b>61</b>
5.1. INTRODUCCIÓN .....	61
5.2. ESPECIE DE ESTUDIO .....	62
5.3. MUESTREO.....	63
5.3.1. Descripción de los puntos de muestreo .....	63
5.3.2. Descripción del muestreo .....	67
5.4. VARIABILIDAD ESPACIAL DEL SISTEMA SUELO-PLANTA .....	68
5.4.1. Suelos: características generales y nivel de contaminación .....	68
5.4.1.1. Características generales .....	68
5.4.1.2. Nivel de contaminación: concentraciones totales .....	70
5.4.1.3. Nivel de contaminación: concentraciones disponibles .....	77
5.4.2. Planta: Variabilidad espacial de la biomasa .....	81
5.4.3. Planta: Variabilidad espacial de la concentración de nutrientes y elementos traza .....	82
5.4.3.1. Concentración de nutrientes .....	82
5.4.3.2. Concentración de elementos traza .....	84
5.4.4. Comparación entre las fracciones verdes y secas .....	87
5.4.5. Relación suelo-planta .....	89
5.5. VARIABILIDAD TEMPORAL DEL SISTEMA SUELO-PLANTA .....	92
5.5.1. Suelo: Variaciones en la concentración de elementos traza .....	92
5.5.2. Planta: Variabilidad temporal .....	94
5.5.2.1. Variaciones en la concentración de nutrientes .....	96
5.5.2.1. Variaciones en la concentración de elementos traza .....	96
5.6. IMPLICACIONES PARA LA RED TRÓFICA .....	100
5.7. USO POTENCIAL DE LA GRAMA COMO PLANTA BIOINDICADORA Y FITORREMEDIADORA .....	108
5.7.1. La grama como bioindicadora .....	109
5.7.2. La grama como fitoestabilizadora .....	111
5.7.3. La grama como fitoextractora .....	113
5.8. CONCLUSIONES .....	115
<b>6. PLANTAS COMO BIOINDICADORES DE LA CONTAMINACIÓN POR ELEMENTOS TRAZA .....</b>	<b>119</b>
6.1. INTRODUCCIÓN .....	119
6.2. ESPECIE DE ESTUDIO .....	120
6.3. MUESTREO .....	121
6.3.1. Puntos de muestreo .....	121
6.3.2. Descripción del muestreo .....	124
6.4. SUELOS: CARACTERÍSTICAS GENERALES Y NIVEL DE CONTAMINACIÓN .....	126
6.4.1. Características generales .....	126
6.4.2. Nivel de contaminación de los suelos: concentraciones totales .....	129
6.4.3. Concentraciones disponibles de elementos traza .....	136

6.5. PLANTAS: VARIABILIDAD ESPACIAL EN LA CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS MINERALES .....	141
6.5.1. Concentración de nutrientes en hojas y tallos .....	141
6.5.2. Concentración de elementos traza en hojas y tallos .....	145
6.5.3. Tendencias de variación en la concentración foliar de elementos traza .....	151
6.6. PLANTAS: VARIABILIDAD TEMPORAL EN LA CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS MINERALES .....	153
6.6.1. Variabilidad interanual de nutrientes .....	154
6.6.2. Variabilidad interanual de elementos traza .....	158
6.6.3. Variabilidad de acumulación de elementos traza en hojas y tallos .....	163
6.7. POTENCIAL DEL ÁLAMO BLANCO COMO ESPECIE BIOINDICADORA .....	166
6.8. CONCLUSIONES .....	172
<b>7. ACUMULACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN HOJAS Y FRUTOS EN ÁRBOLES DE BOSQUE MEDITERRÁNEO .....</b>	<b>177</b>
7.1. INTRODUCCIÓN .....	177
7.2. ESPECIES DE ESTUDIO .....	178
7.2.1. Acebuche .....	178
7.2.2. Encina .....	179
7.3. MUESTREO Y ANÁLISIS.....	181
7.3.1. Zona de muestreo .....	181
7.3.2. Descripción del muestreo .....	181
7.3.3. Análisis de las muestras .....	182
7.4. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y NIVEL DE CONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS ....	183
7.4.1. Propiedades generales .....	183
7.4.2. Contenido de nutrientes .....	184
7.4.3. Concentraciones totales de S, elementos traza, y valores de PLI .....	186
7.4.4. Concentraciones disponibles de elementos traza .....	188
7.5. VARIABILIDAD ESPACIAL EN ACEBUCHES Y ENCINAS .....	190
7.5.1. Concentración de nutrientes .....	190
7.5.1.1. Hojas .....	190
7.5.1.2. Frutos .....	192
7.5.2. Concentración de elementos traza .....	195
7.5.2.1. Hojas .....	195
7.5.2.2. Ramas .....	200
7.5.2.3. Frutos .....	201
7.6. CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES Y ELEMENTOS TRAZA EN FUNCIÓN DE LA EDAD DE LA HOJA .....	204
7.6.1. Nutrientes .....	204
7.6.2. Elementos traza .....	205
7.7. VARIABILIDAD TEMPORAL .....	208
7.7.1. Variaciones en la concentración de nutrientes .....	208

7.7.1.1. Hojas .....	208
7.7.1.2. Frutos .....	212
7.7.2. Variaciones en la concentración de elementos traza .....	214
7.7.2.1. Hojas .....	214
7.7.2.2. Ramas .....	220
7.7.2.3. Frutos .....	223
7.8. POSIBLES IMPLICACIONES PARA LA RED TRÓFICA .....	228
7.8.1. Hojas de encina .....	229
7.8.2. Acebuchinas .....	233
7.9. CONCLUSIONES .....	236
<b>8. EFECTO DE LOS ELEMENTOS TRAZA SOBRE EL CRECIMIENTO Y TASAS DE</b>	
<b><u>ABSORCIÓN Y UTILIZACIÓN DE ELEMENTOS MINERALES</u></b> .....	240
8.1. INTRODUCCIÓN .....	240
8.1.1. Análisis de crecimiento: definición y cálculo .....	241
8.2. ESPECIE DE ESTUDIO .....	247
8.3. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	249
8.3.1. Cosechas .....	249
8.3.2. Características de los suelos de las parcelas experimentales .....	251
8.4. CRECIMIENTO Y ALOCACIÓN .....	253
8.4.1. Biomasa .....	253
8.4.2. Crecimiento .....	256
8.4.3. Alocación de biomasa .....	260
8.5. ALOCACIÓN DE NITRÓGENO Y ELEMENTOS MINERALES.....	261
8.5.1. Alocación y concentración de elementos minerales .....	263
8.5.1.1. Macronutrientes : N y P .....	263
8.5.1.2. Micronutrientes: Cu y Zn .....	265
8.5.1.3. Elementos traza: As y Cd .....	266
8.5.2. Alocación relativa a la biomasa .....	268
8.5.2.1. Macronutrientes: N y P .....	269
8.5.2.2. Micronutrientes: Cu y Zn .....	271
8.5.2.3. Elementos traza: As y Cd .....	273
8.6. ABSORCIÓN Y UTILIZACIÓN DE NUTRIENTES Y ELEMENTOS TRAZA .....	276
8.6.1. Tasa de absorción específica .....	276
8.6.2. Tasa de utilización específica .....	279
8.7. CONCLUSIONES .....	282
<b>9. CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	286
<b>10. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	291
<b>11. ANEXO FOTOGRÁFICO</b> .....	317



## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. EL ACCIDENTE MINERO DE AZNALCÓLLAR**

#### ***1.1.1. Descripción del accidente***

El complejo minero de Aznalcóllar está situado en el extremo suroriental del cinturón pirítico ibérico, que constituye la más vasta e importante provincia vulcanogénica de sulfuros masivos (depósitos polimetálicos) del oeste de Europa, e incluye a Río Tinto, Aljustrel, Neves Corvo, Tharsis, Sotiel y Aznalcóllar. Se extiende a través de 200 km (unos 8000 km<sup>2</sup> de superficie) desde el suroeste de Portugal hasta Sevilla (Alastuey *et al.*, 1999; López-Pamo *et al.*, 1999).

La madrugada del 25 de abril de 1998, el dique de contención de la balsa de decantación de la mina de los Frailes en Aznalcóllar (Sevilla), situada en la margen derecha del río Agrio, a 2 km de su confluencia con el Guadiamar, se desplazó unos 60 m, dejando abierta una brecha de unos 50 m. Por ella salió una mezcla de lodos y aguas ácidas que inundaron las cuencas de los ríos Agrio y Guadiamar, a lo largo de 60 km, comprendidas entre la balsa y la zona denominada Entremuros, en el límite del Parque Nacional de Doñana. La construcción de muros de contención antes de que llegara la riada, en la zona de Entremuros, impidió que la contaminación se extendiese al Parque y llegara directamente al río Guadalquivir, contaminando su rico estuario (Cabrera, 2000).

A través de la brecha salieron unos 2 hm<sup>3</sup> de lodos y 3-4 hm<sup>3</sup> de aguas ácidas (con un pH en torno a 5,5 y una alta concentración de metales en disolución, fundamentalmente Fe, Pb y Zn procedentes de la flotación de la pirita: Arenas *et al.*, 2001) quedando en la balsa unos 25 hm<sup>3</sup> de aguas y lodos.

Parte de los lodos (985.497 m<sup>3</sup>) se depositaron en el cauce y otra parte (996.347 m<sup>3</sup>) sobre los suelos de las márgenes de ambos ríos. La ola de la riada

llegó a alcanzar hasta 3 m de altura, dejando una franja de unos 300 m a cada margen de los ríos Agrio y Guadamar, cubierta por una capa de lodo que en las inmediaciones de la balsa llegó a tener 1,7 m de espesor (el grosor del vertido fue muy variable, desde menos de 2 cm a más de 1,5 m). El 79% de la superficie afectada quedó cubierta por una capa de 2-30 cm de lodo (López-Pamo *et al.*, 1999).

La riada afectó a un total de 4286 ha. de las cuales, 2710 ha correspondían a superficie cubierta por lodo y las restantes a zonas afectadas por las aguas (Tabla 1.1).

Centrándonos en el cauce del río Guadamar, podemos indicar que la riada tóxica afectó de manera diversa a nueve municipios de la provincia de Sevilla (Tabla 1.2). El área afectada comprendía, en su mayor parte, zonas agrícolas y pastizales.

**Tabla 1.1.** Evaluación de las superficies afectadas por el vertido. Datos facilitados por la Consejería de Medio Ambiente (CMA, 1998).

Zona	Superficie (ha)
Total evaluada	4634,2
Total de la zona afectada	4286,4
Espacios Naturales Protegidos	2354,4
Parque Natural de Doñana	2256,4
Parque Nacional de Doñana	98,0

Todos los hábitats incluidos en el cauce fluvial y en el entorno del río quedaron inundados, especialmente la zona de Entremuros, donde, a consecuencia del cierre total y el aporte de escorrentías procedentes de las lluvias posteriores al cierre, llegaron a acumularse más de 5 hm<sup>3</sup> de agua.

En los primeros días se produjo la desaparición de la totalidad de la fauna acuícola del río Guadamar, retirándose más de 30.000 kg de fauna piscícola, principalmente carpas, albuces y barbos y, en menor proporción, anguilas y cangrejos. En un primer momento, los animales murieron por asfixia debida a la fina granulometría de los lodos, y posteriormente, por efecto de la acidificación. Respecto a la avifauna, los ejemplares adultos de la zona afectada no tuvieron dificultad para ponerse a salvo, resultando dañadas las puestas existentes (CMA, 1998).

Resultaron afectados diversos pozos en los que se produjo la entrada directa de los lodos como consecuencia de la riada, quedando a salvo aquellos que, encontrándose en la zona afectada, disponían de entrada protegida. Lógicamente,

se procedió a la clausura de los pozos contaminados, medida que afectó a los abastecimientos de las urbanizaciones de Los Encinares y Los Ranchos del Guadiamar (Sanlúcar la Mayor), así como pozos de agua para uso industrial en las localidades de Huévar y Pilas respectivamente (CMA, 1998).

**Tabla 1.2.** Evaluación de la superficie afectada por los vertidos en los distintos municipios. Datos facilitados por la Consejería de Medio Ambiente (CMA, 1998).

Municipio	Superficie evaluada (Ha)
Aznalcóllar	12,8
Sanlúcar la Mayor	695,6
Olivares	227,0
Benacazón	239,7
Huévar	52,6
Aznalcázar	2789,1
Villamanrique de la Condesa	71,8
Puebla del Río	5,6
Villafranco del Guadalquivir	493,9

### **1.1.2. Características del vertido.**

La naturaleza del vertido estuvo condicionada por la composición paramagnética del yacimiento y por la eficacia de los procesos de recuperación del mineral. El yacimiento de los Frailes está compuesto fundamentalmente por minerales de Fe, Cu, Pb, Zn y As (pirita, esfalerita, galena, calcopirita, arsenopirita), que contienen Ag, Cd, Hg, Sb y Tl en sustituciones isomórficas.

En la balsa se recogían la pirita flotada, los estériles (materiales sólidos finamente divididos) y las aguas de tratamiento y de la planta. Durante algún tiempo la pirita se llevaba a Huelva para su tostación y fabricación de ácido sulfúrico. Al dejar de ser rentable este método de obtención de sulfúrico, la pirita no se separaba de los estériles y se vertía en la balsa de decantación (Cabrera, 2000).

Consecuentemente, los lodos vertidos estaban compuestos por pirita (arsenopirita; 75-80%), esfalerita y galena (5%), silicatos (cloritas, nantronitas, montmorillonitas), cuarzo y yeso (15-20%), con el As asociado al Fe y al S, y, ocasionalmente, al Pb y al Zn (López-Pamo *et al.*, 1999). Su composición química era muy similar a la de las piritas del yacimiento (Tabla 1.3). Información adicional sobre la composición del lodo pirítico puede encontrarse en Alastuey *et al.* (1999),

Cabrera *et al.* (1999), López-Pamo *et al.* (1999), Simón *et al.* (1999) y Vidal *et al.* (1999).

**Tabla 1.3.** Composición de los lodos y piritas de Aznalcóllar (ITGE, 1998).

Metales	Lodo	Pirita
Hierro (%)	38,16	34-38
Cobre (%)	0,148	0,1-0,2
Plomo (%)	0,867	0,8-1,2
Zinc (%)	0,933	0,7-1,2
Arsénico (%)	0,517	0,5-0,6
Cadmio (mg kg <sup>-1</sup> )	40	-
Cobalto (mg kg <sup>-1</sup> )	50	-
Cromo (mg kg <sup>-1</sup> )	40	-
Mercurio (mg kg <sup>-1</sup> )	12	-
Antimonio (mg kg <sup>-1</sup> )	440	-
Talio (mg kg <sup>-1</sup> )	43	-

### **1.1.3. Contaminación de los suelos y evolución del lodo pirítico.**

En general, en los suelos con un contenido de arcilla superior al 25 %, la contaminación más importante por metales pesados y As se registró en los primeros 20 cm, disminuyendo a mayores profundidades, donde apenas era perceptible. Por el contrario, en los suelos más arenosos, la contaminación por metales pesados y As penetró hasta profundidades de 50-80 cm (Cabrera *et al.*, 1999).

Los contaminantes principales fueron Zn, Pb, Cu, As, Sb, Bi, Cd y Tl (Simón *et al.*, 1999). Las concentraciones de As, Au, Pb, Sb, Tl y Zn superaron los valores considerados normales para suelos del mundo (Cabrera *et al.*, 1999). Según Simón *et al.* (1999), la mayor parte del Cu, Zn y Cd penetró en el suelo con la fase líquida del vertido, mientras que los restantes elementos penetraron fundamentalmente con la fase sólida.

Las Tablas 1.4. y 1.5 recogen los resultados de un análisis exhaustivo de suelos, realizado pocos días después del vertido. Se comparan suelos de la cuenca afectados y no afectados por el vertido.

Información adicional sobre la contaminación y movilidad potencial de los contaminantes puede encontrarse en Díaz-Barrientos *et al.* (1999), López-Pamo *et al.* (1999) y Vidal *et al.* (1999).

Según Vidal *et al.* (1999), los elementos traza del vertido pueden ser clasificados en tres categorías, según su movilidad: alta (Cd y Zn), media (Cu) y baja (As, Pb, Bi y Tl). De todos los elementos traza, el Cd resultó el más móvil, y en principio, podría ser removilizado con más facilidad en las zonas afectadas. Según se verá en capítulos posteriores de esta Memoria, el Cd sigue siendo, efectivamente, uno de los elementos que las plantas absorben en mayor medida en la zona afectada.

**Tabla 1.4.** Concentraciones totales (mg kg<sup>-1</sup>) de elementos traza en los suelos del Guadamar (0-50 cm) comparados con los valores de suelos normales y valores considerados tóxicos para las plantas (adaptado de Cabrera *et al.*, 1999).

Elemento	Suelos no afectados		Suelos afectados		Suelos normales *	Concentración fitotóxica **
	media	intervalo	media	intervalo	media	intervalo
As	18,9	8,37-38,5	80,4	9,38-1684	6	20
Au	0,088	0,035-0,27	0,102	0,033-0,49	-	-
Ba	302	243-359	289	214-497	500	-
Be	1,91	1,36-2,56	1,55	0,55-3,67	0,3	-
Bi	0,49	0,24-1,17	1,80	0,31-33,4	0,2	-
Cd	0,33	0,12-1,06	1,69	0,12-22,0	0,35	3-8
Co	12,4	8,19-17,6	12,5	6,04-31,2	8	25-50
Cr	68,6	48,3-89,7	61,7	26,8-92,4	70	75-100
Cu	30,9	12,3-85,0	104	12,5-958	30	60-125
In	0,063	0,034-0,11	0,123	0,026-1,24	1	-
Mn	678	398-939	602	290-940	1000	1500-3000
Mo	0,53	0,33-0,99	0,69	0,25-3,79	1,2	-
Ni	26,9	19,0-36,1	22,9	8,04-39,0	50	100
Pb	38,2	19,5-86,3	234	25,3-4969	35	100-400
Sb	1,80	0,71-3,31	13,7	0,89-323	1	-
Sc	12,5	8,89-16,7	11,2	4,79-20,4	7	-
Sn	1,27	0,00-3,97	2,29	0,00-11,3	4	50
Th	11,1	8,75-18,8	9,88	5,39-14,7	9	-
Tl	0,70	0,37-2,77	2,11	0,40-30,3	0,2	-
U	1,65	1,42-2,26	1,65	1,07-2,21	2	-
V	94,4	69,4-120	84,9	36,2-120	90	-
Y	17,8	12,4-23,9	16,8	9,55-24,4	40	-
Zn	109	53,9-271	487	56,8-5283	90	70-400

\*Bowen (1979)

\*\*Ross (1994); Singh y Steinnes (1994).

Pocos días después del vertido (comienzos de mayo), se produjeron episodios de lluvia (unos 12 L m<sup>-2</sup>). Como resultado, se produjo una oxidación parcial de sulfuros (química y sobre todo bacteriana), que originó una extensa costra de sulfatos en la parte superior de la capa de lodos. Esta capa blanca de sulfatos se debió a la intensa evaporación, tras el proceso de oxidación, de los fluidos intersticiales que ascendían por capilaridad a través de las capas piríticas.

Esta costra estaba constituida por sulfatos de Ca, Mn, Mg, Fe, Zn, Cd y Cu muy solubles. La máxima acumulación de estas eflorescencias salinas se produjo a finales de mayo y principios de junio. A mediados de junio también se comenzó a detectar, en puntos concretos, sulfatos de Fe y Zn, más oscuros, con menores proporciones de los restantes elementos. Gran parte de estas costras desaparecieron en verano, debido a su disolución y/o erosión eólica.(Alastuey *et al.*, 1999).

**Tabla 1.5.** Concentraciones medias (mg kg<sup>-1</sup>) de metales pesados y valores de PLI a diferentes profundidades en los suelos no afectados y afectados de la cuenca del Guadamar (adaptado de Cabrera *et al.*, 1999).

Prof. (cm)	As	Au	Bi	Cd	Cu	Pb	Sb	Tl	Zn	PLI
<b>Suelos no afectados</b>										
0-5	19,4	0,10	0,45	0,33	31,1	37,1	1,73	0,50	109	0,96
5-10	18,6	0,12	0,46	0,34	30,5	36,8	1,63	0,61	110	1,00
10-15	17,0	0,06	0,57	-	-	31,2	1,80	0,78	-	--
15-20	18,0	0,06	0,54	0,33	31,1	39,3	1,97	1,00	113	1,02
20-50	17,5	0,10	0,38	0,37	30,9	37,8	1,75	0,51	108	0,95
<b>Suelos afectados</b>										
0-5	106	0,10	2,26	3,07	108	352	20,9	2,96	965	5,39
5-10	172	0,13	3,64	2,57	137	510	31,8	3,92	678	6,73
10-15	31,9	0,07	0,87	0,84	69,0	88,6	4,14	1,28	248	1,89
15-20	37,2	0,11	1,09	0,95	81,1	102	4,75	1,46	272	2,26
20-50	38,1	0,10	0,91	1,02	100	86,5	4,25	1,05	263	2,11

En las costras salinas se produjo una mayor concentración de Cd, Cu y Zn (elementos cuya presencia en el vertido era importante), mientras que otros elementos, como As y Pb, también importantes en el vertido, no se concentraron en la misma medida. Ello se debió, probablemente, a una menor oxidación de la arsenopirita y galena, comparadas con la pirita y esfalerita; o a una menor movilidad del As y Pb en los productos de la edafización (Alastuey *et al.*, 1999).

Estos datos coinciden básicamente con los obtenidos por Simón *et al.* (2001), quienes detectaron una rápida, e intensa, aparición de sulfatos solubles de Zn, Cd y Cu con la llegada de las primeras lluvias, y mucho menor en el caso de elementos como As, Bi, Sb, Pb y Tl. Según estos autores, la intensidad de la oxidación y posterior solubilización de los elementos contaminantes fue mucho más pronunciada en los sectores medio y bajo de la cuenca, donde el tamaño de partícula y densidad aparente de los residuos mineros eran menores, y mayor su contenido de S.



La formación de costras salinas procedentes de la oxidación pirítica es un fenómeno que sigue observándose periódicamente en la zona afectada, constituyendo la principal vía de entrada de S (sulfatos) en las plantas que crecen en ella.

#### **1.1.4. Labores de recuperación de los suelos**

Una vez controlado el vertido, evitando que las aguas ácidas entrasen en Doñana, se pasó a la retirada de lodos de las tierras afectadas. Se realizó un diagnóstico preliminar de la zona para determinar los procedimientos más adecuados de retirada de dichos lodos, realizándose una serie de muestreos cuyos resultados analíticos determinaron el nivel de contaminación de las distintas áreas de la cuenca.

A partir de los resultados sobre la contaminación y penetración de los metales pesados y elementos traza, se hicieron las siguientes recomendaciones para la recuperación de los suelos:

- Retirada de los lodos de la forma más cuidadosa posible de la superficie de los suelos.
- Remoción de 10 ó 20 cm de suelo contaminado.
- Laboreo en la capa de 20-30 cm para mezclar, homogeneizar y diluir los contaminantes.
- Análisis de los suelos limpios una vez homogeneizados (metales totales y disponibles).
- Aplicación de enmiendas (carbonato cálcico, óxidos de Fe, Al o Mn, zeolitas, etc.) en los casos en que las condiciones finales del suelo limpio lo requiriesen (Cabrera *et al.*, 1999; Cabrera, 2000).

Los trabajos de retirada de lodos se desarrollaron en dos fases claramente diferenciadas; la primera consistió en la retirada de lodos propiamente dicha, mientras que la segunda, más específica, tuvo lugar en zonas donde se detectaron problemas puntuales, en los que se efectuó una segunda limpieza. Los lodos fueron depositados en la corta de la mina de Aznalcóllar, propiedad de Boliden-Apirsa, dada su idoneidad como depósito.

A finales de 1998 finalizaron las labores de limpieza profunda, terminando en su totalidad en 1999. Tras la retirada de lodos se pasó a la aplicación de enmiendas, orgánicas e inorgánicas, tanto para la neutralización e inmovilización de la contaminación residual (elementos traza), como para la recuperación, en lo

posible, de la fertilidad de los suelos (pérdidas de materia orgánica y nutrientes tras la retirada de la capa arable).

Según Carrero y Vázquez (2001) inicialmente se propusieron las siguientes estrategias correctoras:

- ♦ Corrección de la acidez para la estabilización de los metales pesados, recomendándose el uso de espuma de azucarera (cuya dosificación es más fácil que la del  $\text{CaCO}_3$ , tiene una reacción más lenta en el suelo, consiguiendo una subida limitada de pH y posee un contenido razonable de materia orgánica útil para la fertilidad del suelo).
- ♦ Tratamiento inorgánico para la estabilización del As, mediante la adición de suelos rojos ricos en hidroxidatos de Fe (el As es un elemento anfótero cuya respuesta a los carbonatos no es tan buena como las de otros elementos).
- ♦ Tratamientos orgánicos (adición de enmiendas orgánicas) para recuperar la fertilidad de los suelos degradados por la limpieza mecánica.
- ♦ Técnicas complementarias de fitorremediación y fitoextracción.

Las tres primeras medidas resultaron en general, muy efectivas. La aplicación de espuma de azucarera se realizó primero de forma generalizada, y en fases posteriores (hasta dos fases) sólo en las zonas más contaminadas y con mayor déficit de carbonatos (CMA, 2001).

Por el contrario, los ensayos de fitorremediación y fitoextracción no demostraron ser una alternativa viable, sobre todo cuando se decidió realizar una gestión integrada de la cuenca dentro del denominado "Proyecto Corredor verde del Guadiamar".

Además de las labores de limpieza (retirada de lodos) y aplicación de enmiendas, también se tomaron de forma urgente una serie de medidas sanitarias, socio-económicas y de control de las actividades de la zona, cuyo resumen recoge la Tabla 1.6.

A estas medidas habría que añadir otras de carácter sanitario y de control de la calidad ambiental, que por su extensión no se recogen en la presente Memoria. Cabría destacar la vigilancia sanitaria llevada a cabo por la Consejería de Salud sobre la población de la zona (más específica en el caso de los trabajadores que participaron en la retirada de los lodos), así como el control de la calidad de las aguas, del estuario, del aire y de los seres vivos (incluidas las plantas), actividades que acabaron siendo aglutinadas por el Programa de Investigación del Corredor

Verde del Guadiamar (PICOVER) (CMA, 2000, 2001; Arenas *et al.*, 2001; CMA, 2003).

**Tabla 1.6.** Resumen de las actuaciones y medidas más urgentes tomadas en relación con el accidente minero de Aznalcóllar (adaptado de Grimalt *et al.*, 1999).

Fecha	Acción
25 Abril 1998	Rotura de la balsa de contención de la mina de Boliden-Apirsa. Liberación de 6 millones de metros cúbicos de lodos y aguas ácidas con elevadas concentraciones de metales.
25 Abril 1998	Construcción de un muro de retención del lodo tóxico en la zona de Entremuros (cerca de Vuelta de Arena).
26 Abril 1998	Construcción de un segundo muro en el límite del Parque Natural de Doñana debido al desbordamiento del muro previo.
27 Abril - 27 Mayo 1998	Retirada de la fauna muerta del área contaminada: 37 toneladas de peces, 40 toneladas de anfibios, 20 toneladas de pájaros y 8 toneladas de mamíferos.
27 Abril - 27 Mayo 1998	Recogida de 890 huevos, 14 crías y 9 aves para su desarrollo y recuperación en el centro del Acebuche.
28 Abril 1998	Prohibición de la pesca en las aguas contaminadas.
30 Abril 1998	Prohibición de recolectar alimentos marinos como angulas y camarones.
3 Mayo 1998	Comienzo de la retirada de los lodos tóxicos.
5 Mayo 1998	Prohibición de recolectar cualquier producto agrícola del área contaminada, excepto para su destrucción inmediata.
13 Mayo 1998	Comienzo de la recolección de productos agrícolas del área afectada para su destrucción.
9-18 Junio 1998	Comienzo de la compra* de todas las tierras afectadas por el vertido tóxico
23 Junio 1998	Prohibición de la recolección o comercialización de crustáceos en el río Guadalquivir y marismas adyacentes desde el Caño de Yeso hasta la desembocadura
24 Julio 1998	Comienzo del tratamiento de las aguas contaminadas retenidas en el área de Entremuros
6 Noviembre 1998	Prohibición de la caza de aves en las provincias de Sevilla, Huelva y Cádiz
23 Diciembre 1998	Se deroga la prohibición de la caza de aves
13 Enero 1999	Comienza la información sobre la creación de un "Corredor Verde"

\* Expropiación forzosa en determinados casos (CMA, 2001).

Para darnos una idea de la magnitud de las tareas realizadas, basta indicar que en ellas participaron el Ministerio de Medio Ambiente, el Instituto Tecnológico y Geominero de España, la Confederación Hidrográfica del Guadalquivir, grupos de diversas Universidades españolas y extranjeras y del Consejo Superior de

Investigaciones Científicas, así como las Consejerías de Salud y Medio Ambiente de la Junta de Andalucía (CMA, 2001).

Al margen de los proyectos de Investigación desarrollados en el marco del PICOVER, podrían citarse otros muchos, financiados por distintos estamentos, que no es posible detallar aquí por razones de espacio. Sirva de ejemplo el Proyecto FEDER-CICYT que culminó con la publicación especial del Boletín Geológico y Minero "las aguas y los suelos tras el accidente de Aznalcóllar" (Ayora *et al.*, 2001).

Además del seguimiento de la contaminación de suelos, agua y seres vivos, uno de los temas que sigue preocupando a las distintas administraciones es el de la adecuada recuperación de los suelos afectados, debido a la contaminación residual todavía existente. En esta faceta siguen trabajando diversos investigadores, pudiéndose citar como ejemplo los trabajos de Pérez de Mora *et al.* (2003a,b; 2004).

Finalizado el plan de medidas puesto en marcha por la administración para controlar el impacto ambiental del accidente minero, se dio paso al denominado **Proyecto del Corredor Verde del Guadiamar**, cuyos objetivos fundamentales son:

- ➔ Controlar y remediar la contaminación generada por el vertido de las minas de Aznalcóllar
- ➔ Recuperar una de las funciones que ejercía el río Guadiamar y su cuenca en el territorio y que ya había perdido con anterioridad a la catástrofe minera: esto es, su papel como corredor de especies y procesos naturales entre los arenales del litoral de Doñana y Sierra Morena Occidental
- ➔ Mejorar la calidad de vida de los habitantes de la cuenca (CMA, 2001).

En el volumen colectivo "Ciencia y Restauración del Río Guadiamar" (CMA, 2003), puede encontrarse una exhaustiva información sobre las labores científico-técnicas que se vienen desarrollando en el Corredor, incluidas las reforestaciones con plantas autóctonas.

Algunas de las especies que se están plantando (álamo blanco, encina, acebuche) coinciden con las que hemos estudiado en este trabajo, en estado natural. Los resultados obtenidos pueden dar idea de la incidencia que pueden tener sobre estas especies, a largo plazo, la dinámica de determinados elementos traza que se supone van a seguir contaminando la zona durante muchos años.

### ***1.1.5. Contaminación residual de los suelos tras las labores de limpieza***

La retirada de los lodos supuso un enorme despliegue de medios materiales y humanos, dado que era imperativo retirarlos antes de la llegada de las primeras lluvias de otoño.

Para hacernos idea del esfuerzo que tuvo que realizar la administración andaluza, basta decir que durante los 208 días que duró la primera fase de retirada, se movilizaron 491 camiones y 154 unidades de otra maquinaria, con la participación de 868 personas (técnicos, conductores, etc.). Esto supuso un total de 16.998.684 km recorridos, con una media de 70.077 km por camión (CMA, 2001). La envergadura de tal operación llegó incluso a generar accidentes mortales.

Pero a pesar de que la eliminación del material contaminante depositado en la cuenca (se retiraron unos 7 millones de m<sup>3</sup> de lodo, más una capa de 5-10 cm de suelo) se realizó con el mayor cuidado posible, no se pudo evitar la permanencia de cierto nivel de contaminación en la zona afectada, derivado de la alteración del terreno causada por la propia maquinaria que, como indica Cabrera (2000), provocó el enterramiento de parte del lodo depositado en la superficie.

Tras la retirada de lodos, el Instituto Tecnológico Geominero de España (ITGE) realizó un informe a partir de imágenes aéreas, resaltando la alta variabilidad de esta contaminación residual. Utilizando la imagen tratada por el Grupo de Teledetección del ITGE, se estimó, para el 50% de las zonas afectadas, un contenido de lodo superior al 15% en los primeros 10 cm de suelo (esta cifra se reducía a un 2,5% si se consideraba la profundidad de 10-25 cm).

Estos datos fueron precisados mediante análisis químicos, obteniéndose concentraciones más bajas y confirmándose la considerable reducción del lodo residual en profundidad. Se comprobó que el 75% de las muestras superficiales presentaba un contenido de lodo inferior al 3%, cifra aún menor (0,68%) en las muestras más profundas (ITGE, 1999).

Estos estudios demostraron que las concentraciones de As, Cu, Pb y Zn eran muy elevadas en los primeros 10 cm de las zonas con lodo remanente, superando los niveles de intervención en suelos de Parques Naturales. La contaminación se reducía bastante en las muestras más profundas (10-25 cm), en las que As fue el

único elemento cuya mediana superó el límite máximo de intervención en Parques Naturales.

**Tabla 1.7.** Valores medios (y desviación estándar, DS) de CaCO<sub>3</sub>, pH y contenidos totales de S y elementos traza en suelos recuperados de la zona norte del Guadamar (adaptado de Cabrera *et al.*, 2003).

Prof. (cm)		CaCO <sub>3</sub> (%)	pH	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	S (mg kg <sup>-1</sup> )
<b>Typic Xerofluvent calcáreo (n=6)</b>									
0-20	media	10,4	7,5	50,5	3,10	211	138	687	1435
	DS	8,2	0,1	29,0	3,00	167	122	518	846
20-40	media	5,3	7,4	61,8	2,87	245	126	685	3004
	DS	6,5	0,5	32,0	2,74	201	54	543	1175
<b>Typic Xerofluvent no calcáreo (n=23)</b>									
0-20	media	ND	4,7	83,0	1,12	105	220	322	3855
	DS		1,1	72,0	0,87	82,1	277	238	5284
20-40	media	ND	5,4	110	0,69	94,4	239	189	2883
	DS		1,1	331	1,31	131	782	300	9916
<b>Typic Xerochrept (n=11)</b>									
0-20	media	ND	4,5	161	1,32	111	367	351	8712
	DS		1,1	257	1,41	82,7	566	299	16071
20-40	media	ND	5,1	229	1,76	119	533	350	10332
	DS		1,0	648	4,09	218	1510	788	32068
<b>Calcixerollic Xerochrept (n=5)</b>									
0-20	media	12,5	7,5	25,7	0,42	25,9	73,5	128	1458
	DS	4,8	0,1	23,2	0,21	13,5	2,8	59,5	1421
20-40	media	12,1	7,6	12,4	0,26	19,8	11,4	82,9	684
	DS	5,6	1,0	8,4	0,05	8,5	2,5	13,5	782
<b>Valores medios antes de la recuperación*</b>									
0-20				31,8	1,02	58,1	118	310	-
20-40				15,1	0,24	22,5	47,2	75,5	-
Valores de fondo de la zona norte del Guadamar*				9,8	0,18	15,7	23,1	63,4	-
Valores de fondo en la cuenca*				18,9	0,33	30,9	38,2	109	-

ND, no detectado; \*Cabrera *et al.* (1999).



Aunque en numerosos trabajos posteriores se abordó la contaminación residual de los suelos y su gran variabilidad (Clemente *et al.*, 2000, Madejón *et al.*, 2001, 2002, Galán *et al.*, 2002, Cabrera *et al.*, 2003 entre otros), autores como Cabrera (2000) han afirmado que no existen resultados concluyentes acerca del “grado de limpieza” de los suelos tras la retirada de los lodos.

Por ejemplo, Galán *et al.* (2002) han detectado factores altos de concentración para los elementos potencialmente tóxicos, no sólo en superficie, sino también en profundidad (hasta 50 cm). Se trata de un aspecto, contaminación en profundidad, que se destaca en esta Memoria de Tesis (capítulo 6 correspondiente al álamo blanco) y que también ha sido puesto de manifiesto por Cabrera *et al.* (2003).

Los niveles de contaminación detectados por Galán *et al.* (2002) en los suelos afectados son considerados excesivos para su uso agrícola, especialmente en el caso del As, cuyas concentraciones implicarían riesgos de eco-toxicidad. Según estos autores, la distribución de elementos traza en los suelos obedece a dos asociaciones muy definidas, As-Pb-Hg-Sb y Cu-Zn-Cd, con diferente comportamiento geoquímico.

En el trabajo de Cabrera *et al.* (2003) se muestra claramente el efecto que tuvo el enterramiento de los lodos. Antes de la “limpieza” de suelos, éstos estaban cubiertos por una costra de barro pirítico, muy oscura, perfectamente identificable y muy fácil de separar una vez seca, operación que se hacía antes de proceder a la toma de muestras (para analizar por separado el suelo contaminado y la costra correspondiente).

Una vez enterrada en el suelo parte de la costra, por las operaciones de limpieza, las muestras superficiales podían, en consecuencia, presentar mayores concentraciones de elementos traza que las de antes de la limpieza (una vez retirada la costra). Esta circunstancia está reflejada en la Tabla 1.7.

Como consecuencia de esta contaminación residual, resultaba obligado realizar un seguimiento periódico del nivel, y evolución, de la contaminación de los principales sistemas de la cuenca: edáficos, hidrológicos y red trófica. Este trabajo se encuadró inicialmente dentro de un Convenio CMA (Junta de Andalucía)-CSIC para el seguimiento de los seres vivos (Subproyecto Plantas, en nuestro caso), gestionado finalmente dentro del marco del PICOVER.

## 1.2. ELEMENTOS TRAZA EN SUELOS

En Ciencias de la Tierra, se suele considerar como "elemento traza" cualquier elemento distinto de los ocho elementos básicos que constituyen las rocas de la biosfera (O, Si, Al, Fe, Ca, Na, K y Mg). También son definidos como aquellos componentes de la litosfera cuya concentración es inferior a 0,1 % (Adriano, 1986), límite que puede variar en el caso de materiales orgánicos, según se discute en el capítulo siguiente.

Los procesos de edafización "in situ" de los materiales geológicos y las fuentes "ex situ", antropogénicas (actividades humanas: industrias, minería, agricultura, transporte), y en menor medida, naturales (como deposiciones aéreas procedentes de erupciones volcánicas, fuegos, tormentas de polvos y otros fenómenos), constituyen las principales vías de entrada de elementos traza en los ecosistemas terrestres (Ross, 1994a; Naidu *et al.*, 2001).

Una vez en el suelo, superado ya el proceso global de edafización, los elementos traza pueden verse involucrados en una serie de procesos que podrían resumirse, básicamente, de la siguiente forma (Ross, 1994b):

- ♦ disolución y solubilización de minerales y otras formas complejas, acompañada por la precipitación y co-precipitación de especies inorgánicas insolubles, como carbonatos y sulfuros.
- ♦ absorción por las raíces de las plantas e inmovilización en organismos del suelo.
- ♦ reacciones de intercambio catiónico con las arcillas del suelo y/o materia orgánica.
- ♦ reacciones de adsorción específica (quemosorción específica) y de adsorción/desorción sobre hidroxidatos de Fe, Al y Mn.
- ♦ formación de complejos y quelatos con la materia orgánica del suelo.
- ♦ lixiviado de iones móviles y quelatos organo-metálicos solubles.

De una forma muy general, puede decirse que los procesos de lixiviado de elementos traza son mucho menos importantes que los procesos de retención, de manera que el riesgo de contaminación de las aguas subterráneas suele ser bajo. Y dentro de los procesos de retención, para la mayoría de elementos traza (excepto Cd y Zn), es mucho más importante la adsorción específica sobre hidroxidatos de Fe y Al, y materia orgánica, que las reacciones no específicas de intercambio catiónico (Ross, 1994b).

Las fracciones cambiabile y soluble (disueltos en la solución del suelo) constituyen la fuente principal de elementos traza disponible para la absorción radical de las plantas. Por consiguiente, en este apartado nos limitaremos a comentar brevemente aquellos factores que pueden influir sobre su solubilización y retención más débil en los suelos (fracción biodisponible).

#### **1.2.1. Dinámica de elementos traza en los suelos**

Además del pH, potencial redox y temperatura, influenciados frecuentemente por procesos bacterianos, existen otros parámetros que pueden influir decisivamente sobre la movilidad de los elementos traza en el suelo. Podrían citarse, entre otros, la textura, composición de la matriz (mineralogía, materia orgánica) y actividad de los organismos presentes.

Como estos factores pueden variar enormemente de un suelo a otro, no existen reglas generales que permitan predecir con exactitud su influencia sobre la movilidad/biodisponibilidad de los elementos traza (Siegel, 2002), que dependerá, en primer lugar, de la naturaleza del elemento en cuestión y de la forma en que se encuentre.

De forma muy general, puede afirmarse que muchos elementos traza son más móviles bajo condiciones ácidas y oxidantes, mientras que son retenidos con más fuerza bajo condiciones básicas y reductoras (Ross, 1994b). La Tabla 1.8 ilustra esta tendencia.

Efectivamente, la adsorción superficial de metales disminuye cuando baja el pH (existe una mayor presión de protones). Por el contrario, los oxianiones metálicos y metaloides como As y Se (formas aniónicas) serían más solubles bajo condiciones alcalinas. La adsorción específica también es fuertemente dependiente del pH, aumentando con el mismo para las especies catiónicas y disminuyendo para las aniónicas (Naidu *et al.*, 2001).

No obstante, otros factores, como la textura, también pueden influir en este hecho, ya que la adsorción superficial será más baja en suelos arenosos que en suelos arcillosos. Esta circunstancia estaría relacionada, lógicamente, con la mayor superficie específica y acumulación de sorbentes específicos (óxidos y minerales de la arcilla) en la arcilla. Según se indicó anteriormente, la disponibilidad de un metal rara vez está gobernada por un único parámetro.

Junto con las características del suelo, la composición de la solución determinará la dinámica del equilibrio existente entre los metales en solución y la fase sólida. La concentración de metales en solución va a estar influenciada por la naturaleza de los ligandos orgánicos (oxalato, citrato, ácidos fúlvicos, carbono orgánico disuelto) e inorgánicos (fosfato, nitrato, cloruro y sulfato), a través de su influencia sobre los procesos de adsorción.

**Tabla 1.8.** Movilidad relativa de elementos traza en función de las condiciones de oxidación y acidez (adaptado de Ross, 1994b).

Movilidad relativa	Condición del suelo			
	Oxidante	Ácida	Neutra-Alcalina	Reductora
Muy alta	-	-	-	-
Alta	Zn	Zn	-	-
Media	Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au, Cd	Cd	Cd	-
Baja	Pb	Pb	Pb	-
De muy baja a inmóvil	Fe, Mn, Al, Sn, Pt, Cr, Zr	Al, Sn, Pt, Cr	Al, Sn, Cr, Zn, Cu, Co, Ni, Hg, Ag, Au	Zn, Co, Cu, Ni, Hg, Ag, Au, Cd, Pb

Los aniones inorgánicos pueden formar complejos con los metales pesados, reduciendo su adsorción, mientras que su adsorción específica aumentaría la carga negativa de las partículas del suelo, potenciando en este caso la adsorción de metales (Naidu *et al.*, 2001). Se trata de mecanismos bastante complejos, dependiendo la naturaleza de las interacciones, entre los metales y las partículas coloidales, del tipo de suelo y de las características de la superficie adsorbente, parámetros que determinarán en último término que la adsorción sea específica o no específica (dependiente esta última de la capacidad de cambio).

En muchos suelos, la cantidad de metal adsorbido excede con creces a su capacidad de cambio, lo que sugiere que otros procesos además de la adsorción puramente física (no específica, determinada por fuerzas electrostáticas), como la adsorción específica y la precipitación, también contribuyen a la retención de metales en los suelos.

Cuando la concentración de metales es alta, la precipitación parece ser el proceso predominante en suelos con pH alto y presencia de aniones como  $S^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $OH^-$  y  $PO_4^{3-}$ . La coprecipitación de metales ante la presencia de hidroxóxidos de Fe (Ni, Cu, Z, Mo), hidroxóxidos de Mn (Co, Ni, Zn, Pb), calcita (Mn, Co, Cd) y minerales de la arcilla (Ni, Co, Zn, Cu, Pb) ha sido demostrada en

numerosos trabajos (Naidu *et al.*, 1997; Naidu *et al.*, 2001). Los óxidos de Fe también son muy efectivos para la inmovilización del As (Wenzel *et al.*, 1999). Procesos de este tipo son los que justifican la carga y naturaleza de las enmiendas utilizadas en la recuperación de los suelos afectados por el vertido minero de Aznalcóllar.

Las condiciones redox del suelo pueden influir sobre la cantidad de hidroxidatos presentes, y en general sobre las propiedades de adsorción. Bajo condiciones reductoras puede producirse una disolución de óxidos con la consecuente liberación de iones (Parametrix, 1995). Pero también se pueden formar sulfuros de Cd, Zn, Ni, Co, Cu y Pb, que son bastante insolubles, por lo que su movilidad y fitodisponibilidad serían menores que bajo condiciones oxidantes. Hierro, Mn y Cr, por el contrario, son más solubles en estas condiciones (Adriano, 1986).

En general, varios de los metales presentes en el suelo pueden estar en más de un estado de oxidación, especialmente Fe, Mn, Cr, Cu, As, Ag, Hg y Pb, dependiendo su equilibrio redox de la actividad de electrones libres en la fase acuosa. Cuando cambian las condiciones redox, la razón de especies oxidadas a reducidas también cambia. Aunque, según se ha indicado, no pueden establecerse reglas fijas para predecir los resultados, condiciones reductoras (aumento de electrones) potenciarían la disolución de las formas oxidadas y la precipitación de las reducidas, y al contrario.

Los óxidos de Mn, y en menor medida los de Fe, tiene la capacidad de oxidar directamente a otros metales, o catalizar la oxidación mediante  $O_2$ , pudiendo de esta forma limitar notablemente la movilidad de muchos elementos traza en los suelos. Cobalto y Pb, por ejemplo, pueden ser oxidados en la superficie de óxidos de Mn (Ross, 1994b).

Es importante tener en cuenta que en la mayoría de estos procesos no sólo interviene el potencial redox, sino también el pH. Esto es, que en la reacción intervienen tanto electrones como protones. Un ejemplo muy claro lo tenemos en el caso del Mn, cuya actividad en la solución del suelo depende más del potencial redox que de la acidez, aunque, para cualquier situación redox, una disminución del pH aumentaría la cantidad de Mn soluble (Ross, 1994b).

Las moléculas orgánicas del suelo también pueden tener un papel importante en las reacciones redox, mediante la complejación con grupos

funcionales, que estabilizarían ciertos estados de oxidación de los metales, ralentizando un proceso redox, que de otra forma ocurriría rápidamente.

Pero también en este caso influye el pH, puesto que cuando aumenta, estos grupos funcionales orgánicos (carboxílicos, fenólicos, alcohólicos y grupos carbonilo) tienden a disociarse, aumentando así su afinidad por los cationes metálicos. La facilidad con que estos cationes forman complejos con la materia orgánica varía según el orden:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$  (Naidu *et al.*, 2001).

Pero como hemos venido repitiendo a lo largo de este apartado, son muchos los factores que influyen en la formación de complejos organo-metálicos; no existen reglas fijas. Entre estos factores podrían citarse la temperatura, factores estéricos (geometría y flexibilidad), concentración, pH y fuerza iónica de la solución, naturaleza de la especie metálica, catión dominante y ligandos orgánicos e inorgánicos presentes en la solución del suelo.

No es más que un ejemplo de la complejidad que tiene este tipo de interacciones en el suelo, consideradas muy brevemente en este apartado, al no constituir una parte importante de nuestro trabajo. Los tratados de Bowen (1979), Adriano (1989), Harmsen (1992), Kabata Pendias y Pendias (1992), Ross *et al.* (1994b), Harter y Naidu (1995), Naidu *et al.* (2001), Iskandar y Kirkham (2001), facilitan una exhaustiva información sobre la dinámica de los elementos traza en los suelos.

No obstante, los conocimientos adquiridos son más que suficientes para poder establecer tratamientos adecuados que inmovilicen los elementos traza en el suelo y no penetren en los diversos componentes de la red trófica. Como indican Naidu *et al.* (2001), su fitodisponibilidad se reduce según el orden: fracción soluble > cambiante > adsorbida > complejos organo-metálicos > fracción orgánica > óxidos de Fe y Mn > fracción residual.

Por consiguiente, la adición de materia orgánica, determinadas arcillas, óxidos de Fe y Mn, además de materiales que consigan subidas de pH, que facilitan los procesos de retención, son medidas más que contrastadas en campo y laboratorio, para reducir la biodisponibilidad de elementos traza en el suelo.

En el caso concreto de los suelos afectados por el vertido minero de Aznalcóllar, ya se indicó en el apartado anterior que además de la retirada de los lodos, también se aplicaron medidas correctoras. Información adicional sobre estas medidas puede encontrarse en Aguilar *et al.* (2003) y Macías *et al.* (2003).



También se indicó que se trata de una temática que siguen abordando diversos investigadores. Concretamente, Pérez de Mora *et al.* (2003a,b) actualmente están ensayando en estos suelos enmiendas a base de espuma de azucarera, compost urbano, compost de biosólidos, leonardita y hojarasca de bosque.

### **1.3. ELEMENTOS TRAZA EN PLANTAS**

#### ***1.3.1. Elemento traza: concepto y definición***

La mayoría de elementos de la tabla periódica se pueden encontrar en los tejidos vegetales, siempre que se cuente con métodos analíticos suficientemente sensibles para detectarlos (Markert, 1993). Hojas y raíces no pueden rechazar la absorción de elementos del medio si éstos están disponibles en la forma química apropiada. Así, cuando están presentes, las plantas son capaces de absorber elementos que no son frecuentes en los suelos, como los actínidos (Shaw y Bell, 1994).

Sin embargo, no todos los elementos tienen igual importancia para la planta, tanto desde un punto de vista cuantitativo como cualitativo. Las plantas están compuestas por agua (alrededor del 70%), materia orgánica (27%) y minerales (3%) (Mengel y Kirkby, 1987), representando los no metales C, O, H y N, así como K, Ca, S, Mg y P cerca del 95% del peso seco de las plantas.

Estos elementos, junto con Na y Si, suelen aparecer en las plantas en concentraciones superiores al 0,1 %, por lo que se les denomina "macronutrientes". Micronutrientes serían Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B y Cl. Sin embargo, esta división entre macro y micronutrientes es arbitraria, pues a veces, los contenidos de Fe y Mn son casi tan altos como los de S o Mg (Mengel y Kirkby, 1987).

Para autores como Mengel y Kirkby (1987), más que en aspectos cuantitativos, la clasificación de los nutrientes vegetales deberían hacerse en función de su comportamiento bioquímico y función fisiológica. En este sentido consideran cuatro grupos, el primero constituido por los elementos mayoritarios C, H, O, N y S, implicados en los procesos de asimilación (reacciones redox), el segundo por los elementos P, B y Si (procesos de esterificación y transferencia de energía), el tercero por K, Na, Mg, Ca, Mn y Cl (con funciones específicas: activación enzimática, balance aniónico, permeabilidad, y no específicas: potencial

osmótico) y un cuarto grupo constituido por Fe, Cu, Zn y Mo importantes en los procesos de transporte electrónico.

Pero ya se ha indicado que las plantas pueden absorber otros elementos minoritarios sin función metabólica alguna, en cuyo caso no podría utilizarse el término nutriente. Esto nos lleva al concepto de elemento esencial y no esencial para las plantas, aspecto que mientras que no ofrece dudas para elementos básicos, todavía está en estudio en el caso de algunos elementos minoritarios.

Debido a las dificultades que presenta la determinación de los elementos a concentraciones extremadamente bajas, no se descarta que en un futuro algunos elementos no considerados como nutrientes sean clasificados como esenciales para las plantas (Markert, 1994).

Al margen de que sean esenciales, o por el contrario resulten tóxicos, los elementos presentes en concentraciones muy bajas se denominan normalmente "elementos traza". Bargagli (1998), utiliza este término para todos aquellos elementos cuya concentración en la planta es menor que 0,1 % ( $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Sin embargo, otros autores establecen un límite mucho más bajo: 0,01% (Adriano, 1986). En el campo de la nutrición, se considera incluso que un elemento traza rara vez supera los  $20 \text{ mg kg}^{-1}$ . Sinónimos comunes para este término son "microelemento", "metal traza", "metal pesado" y "elemento minoritario".

Sea cual sea el límite establecido, un elemento se considera esencial cuando tiene influencia directa sobre el metabolismo de la planta y no puede ser reemplazado por otro en esa función bioquímica específica. Suelen considerarse esenciales los elementos traza B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo y Zn.

Otros elementos como Al, As, Br, Cl, Cr, F, I, Li, Na, Ni, Rb, Se, Si, Sr, Ti y V pueden resultar beneficiosos para algunas especies vegetales. Por último, concentraciones elevadas de elementos como Cd, Pb, Tl, Ga, Sb, Bi y Hg son tóxicas para las plantas (Adriano, 1989; Kabata-Pendias y Pendias, 1992; Markert, 1992).

Obviamente, concentraciones excesivas de determinados micronutrientes, como Cu y Zn, también podrían resultar tóxicas para la planta, imperando en este caso su papel como elemento traza o metal pesado. A lo largo del presente trabajo utilizaremos preferentemente el término de "elemento traza", en función de su baja concentración en suelos y plantas. El término "metal pesado" suele originar problemas de definición, de forma que dependiendo de la densidad mínima establecida (según autores, ésta sería de  $4,5 \text{ g cm}^{-3}$ ,  $5 \text{ g cm}^{-3}$  ó  $6 \text{ g cm}^{-3}$ ), se incluyen,

o no, determinados elementos, como As y Se (Bargagli, 1998; Prasad y Hagemeyer, 1999; Naidu *et al.*, 2001).

### **1.3.2. Fitotoxicidad ocasionada por elementos traza**

#### **1.3.2.1. Fitotoxicidad**

A nivel de planta completa, los síntomas más visibles de fitotoxicidad incluyen una reducción del crecimiento, sobre todo radical (con frecuencia es uno de los primeros síntomas), clorosis y necrosis en hojas y, posteriormente, síntomas típicos de senescencia y abscisión (Barceló y Poschenrieder, 1992). Estos síntomas serían la respuesta última a toda una serie de cambios metabólicos y estructurales generados por concentraciones celulares de elementos traza superiores a los niveles críticos que la planta puede tolerar.

Los cambios estructurales y ultraestructurales ocasionados por la exposición a metales pesados han sido ampliamente documentados por Barceló y Poschenrieder (1999). Básicamente, los cambios estructurales podrían resumirse en los siguientes puntos : 1) reducción de la elongación radical, 2) daños en el extremo de la raíz, 3) colapso de los pelos radicales o disminución de su número, 4) disminución de la biomasa radical, 5) aumento o disminución de raíces laterales, 6) aumento de la suberificación y lignificación, 7) reducción del diámetro de los vasos y 8) alteraciones estructurales de la hipodermis y endodermis. Las alteraciones inducidas por metales sobre las propiedades mecánicas de la pared celular y la limitación del transporte de agua hacia las células radicales, y a través de la raíz, pueden ser uno de los primeros acontecimientos del síndrome tóxico.

Clorosis y necrosis derivarían de las alteraciones experimentadas por los tejidos fotosintéticos, reflejadas por la inhibición del crecimiento de la hoja, deformación de sus tejidos y, finalmente, necrosis. Tendrían su base en los cambios experimentados por los cloroplastos: 1) hinchazón y disminución de su número 2) disminución del área de las membranas de los tilacoides, 3) distorsión y/o hinchazón de estas membranas, 4) disminución del número de grana, 5) aumento o disminución del almidón y 6) aumento de los "plastoglobuli" (Barceló y Poschenrieder, 1999).

Aunque no se puede excluir un efecto directo de los metales tóxicos sobre los componentes de los cloroplastos, las alteraciones estructurales de los mismos

parecen deberse a toda una serie de efectos indirectos derivados de la presencia de elementos traza, entre los que podrían citarse: deficiencias de Fe, Mn u otros nutrientes básicos, aumento de radicales libres y alteración del balance hormonal, que podría potenciar la senescencia.

En suma, los cambios estructurales detectados a nivel de planta, u órgano (hoja, raíz), tienen su base en mecanismos que operan a un nivel inferior (molecular, subcelular, celular), y que constituyen la base de cualquier manifestación del síndrome tóxico. Por ejemplo, no existe evidencia alguna de que la compartimentación de elementos traza, uno de los mecanismos básicos de resistencia, opere a nivel de planta (raíces, por ejemplo) sin que el mecanismo no haya operado previamente a nivel celular (Rengel, 1997).

#### 1.3.2.2. Efectos a nivel celular y subcelular

A nivel celular, interesa conocer si la lesión primaria ocasionada por los elementos traza se produce a nivel simplástico o apoplástico, pues de ello dependerá el tipo de mecanismo de defensa que prevalezca en la planta (Rengel, 1997), aspecto que se discutirá posteriormente. Muchos autores consideran que el primer contacto potencialmente grave de los elementos traza con el aparato celular se produce a nivel de membrana (plasmalema, zona clave, junto con el núcleo). Sin embargo, no debemos olvidar las interacciones con la pared celular.

Como indican Barceló y Poschenrieder (1992) la pared celular puede aumentar su rigidez, debido probablemente a trastornos enzimáticos relacionados con la biosíntesis de sus constituyentes, mediante cambios en el ensamblaje de sus polímeros, cambios de disposición de los microtúbulos, o debido a un aumento de la adhesión celular de la lámina media.

La acción sobre el núcleo podría radicar en la interacción de determinados metales con los ácidos nucleicos e inhibición de la división celular. Pero se trataría de una alteración posterior a la ejercida sobre la pared y las membranas (Barceló y Poschenrieder 1992).

Según Ernst (1996), el plasmalema recibirá de algún modo una señal en función de la concentración de metales, tras lo que reaccionará transduciendo la señal a la maquinaria celular, para actuar en consecuencia (resistencia), o bien ven afectada su integridad, con consecuencias negativas para la planta (fitotoxicidad).

Como indica Greger (1999), la misión de la membrana plasmática es concentrar nutrientes y, aunque no completamente, excluir elementos tóxicos. Su alteración estructural limitaría esta propiedad fundamental.

Esta alteración podría derivar de la presencia de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (algunas de las cuales son radicales libres). Los radicales libres pueden desencadenar una peroxidación lipídica a nivel de membrana, dañar proteínas, carbohidratos y ocasionar mutaciones en el ADN, mediante la aparición de reacciones en cadena de radicales libres (estrés oxidativo) (Siedlecka *et al.*, 2001).

Los elementos traza pueden influir directa o indirectamente en la generación de radicales libres mediante la transferencia directa de electrones en reacciones de un único electrón, alteración de rutas metabólicas, inactivación de enzimas del sistema antioxidante de la célula (por ejemplo, superóxido dismutasa:  $O_2^{\cdot-} \Rightarrow H_2O_2$  y las peroxidasas/catalasas:  $H_2O_2 \Rightarrow H_2O$ ) y disminución de la cantidad de antioxidantes de bajo peso molecular, eficaces para la terminación de la reacción en cadena (por ejemplo, glutatión, ascorbato, compuestos fenólicos y poliaminas, Dietz *et al.*, 1999).

El control del estrés oxidativo es tan importante que, como indican Devi y Prasad (1999), la tolerancia de las plantas a los metales, se relaciona con frecuencia con su capacidad para resistir la peroxidación de los lípidos de la membrana, catalizada por metales. En condiciones normales el sistema antioxidante de la planta resulta suficiente para contrarrestar la actividad de las especies reactivas de Oxígeno pero cuando estas especies superan los sistemas de defensa, surgen efectos tóxicos.

La capacidad para aumentar la carga antioxidante podría resultar vital para la supervivencia, lo que implicaría una mayor concentración de enzimas, y compuestos no-enzimáticos, de carácter antioxidante. Como indican Dietz *et al.* (1999), el propio estrés oxidativo puede estimular la expresión de enzimas implicados en la biosíntesis de antioxidantes de bajo peso molecular.

Podría pensarse que esta capacidad para activar enzimas de carácter antioxidante podría ser un rasgo característico de tolerancia/resistencia a la presencia de metales. Sin embargo, la comparación de ecotipos o especies muy relacionadas, tolerantes y no tolerantes a los metales, no parece confirmar esta hipótesis. Como se discutirá más adelante, la tolerancia radica fundamentalmente en una eficaz complejación y compartimentación de metales, que evite la

presencia de concentraciones tóxicas en los compartimentos plasmáticos (en suma, en una adecuada homeostasis); así se evitaría, entre otros efectos negativos, la aparición del estrés oxidativo.

Además de la peroxidación, los metales pueden alterar la cantidad total y relativa de lípidos, y su grado de saturación, dependiendo esta alteración del metal, tejido y especie vegetal. En muchos casos, es más importante la alteración de la proporción entre distintos lípidos que la variación de su cantidad total. Básicamente, la influencia de los metales puede radicar en su influencia sobre la biogénesis de distintos tipos de lípidos y/o su unión a las cargas negativas de los grupos fosfato de la membrana (Devi y Prasad, 1999).

Los cambios en la composición lipídica de las membranas influyen decisivamente sobre aspectos estructurales y funcionales importantes, por ejemplo, cambios en su fluidez y alteración de las interacciones existentes entre los lípidos y proteínas. Las proteínas de la membrana pueden ser extrínsecas (unidas por fuerzas electrostáticas a la superficie externa; por ejemplo, enzimas unidos a la membrana) o intrínsecas (integradas en la membrana). Las denominadas proteínas de transporte la atraviesan de un lado a otro, formando "canales proteínicos" (canales iónicos) cuya función es permitir el paso de solutos polares (iones) a través de la misma (Marschner, 1995; Demidchik *et al.*, 2002).

Cambios en la composición lipídica de la membrana pueden afectar a la actividad ATP-asa, básica para la homeostasis celular, pudiendo disminuir su actividad como consecuencia de un aumento de la relación esteroles/fosfolípido, (los esteroles pueden aumentar ante la presencia de metales pesados). También se han descrito cambios en su energía de activación y cambios de conformación, inducidos directamente por metales (Devi y Prasad, 1999).

Una de las consecuencias más importantes que se derivan de la alteración de la actividad ATP-asa radica en la alteración del bombeo electrogénico de protones a través de la membrana. La inactivación de la actividad ATP-asa podría conducir de esta forma a la despolarización de la membrana, con el resultado final de pérdida de iones y otros solutos. Además, muchos de los canales (o poros) de las membranas (proteínas de transporte que forman una especie de canal hidratado a través de las mismas) dependen del voltaje para su correcto funcionamiento (otros canales están regulados químicamente, o por otros factores, por ejemplo presión), de forma que la inactivación de las ATPasa-H<sup>+</sup>, y posterior despolarización, limitarían su operatividad (Ernst, 1996).

La inactivación enzimática por elementos traza no sólo se limita a los sistemas ATPasa. Como indica Ernst (1996), a nivel citosólico son muchos los enzimas que pueden verse afectados por metales libres, siendo la nitrato-reductasa uno de los más sensibles, lo que explicaría la rápida alteración del metabolismo proteico en células afectadas por metales.

Otro grupo importante de enzimas que pueden verse afectados por la presencia de elementos traza lo constituyen los enzimas fotosintéticos. Podrían verse afectados enzimas que intervienen en la biosíntesis de la clorofila, y enzimas que participan en la cadena de transporte fotosintético de electrones, fotofosforilación y fijación fotosintética del CO<sub>2</sub> (la fotosíntesis es uno de los procesos más sensibles a la presencia de elementos traza, Van Assche y Clijsters, 1990).

Paralelamente, la presencia de elementos traza puede inducir la síntesis de determinados enzimas en la célula, como mecanismo de defensa. Por ejemplo, peroxidasas, esterasas y otros enzimas del metabolismo intermediario, pertenecientes o directamente relacionadas con el ciclo de Krebs (Van Assche y Clijsters, 1990; Barceló y Poschenrieder, 1992).

Algunos de estos enzimas, por ejemplo los relacionados con el estrés oxidativo (superóxido dismutasa y peroxidasas), además de inducidos, también pueden ser inhibidos, según se indicó en párrafos anteriores. Como indican Diezt *et al.* (1999), el conocimiento de la respuesta vegetal al estrés oxidativo todavía es muy incompleto.

La inducción de determinados enzimas del metabolismo intermediario (por ejemplo, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa) podría responder a la necesidad de la planta de compensar las pérdidas de ATP y NADPH ocasionadas por la alteración de la fotofosforilación y transporte fotosintético de electrones, comentado anteriormente.

La capacidad de inducción de este tipo de enzimas, y, en general, de otros enzimas resistentes a la presencia de elementos traza en el citosol (y membranas), forman parte del estudio de los mecanismos de resistencia/tolerancia con que cuentan las plantas para contrarrestar los efectos negativos ejercidos por elementos traza, aspecto que se discute brevemente en el siguiente apartado.

### **1.3.3. Mecanismos de resistencia en plantas superiores**

Hay que distinguir entre los términos *resistencia* y *tolerancia* para describir la respuesta vegetal a la presencia de elementos traza. En este apartado emplearemos, siguiendo a Rengel (1997), el término resistencia porque, como indica el autor, es más amplio que el de tolerancia.

Para Rengel (1997), resistencia es una reacción vegetal que permite a la planta sobrevivir y reproducirse en un medio hostil, mediante, básicamente, mecanismos de exclusión de elementos traza, o tolerancia, una vez absorbidos. En este sentido, la tolerancia sería un mecanismo dentro del fenómeno de resistencia. Ernst *et al.* (1992), limitan el uso de ambos términos a plantas en las que los mecanismos de tolerancia/resistencia son heredables. Sin embargo, autores como Markert *et al.* (2003) separan ambos conceptos en función de este carácter.

Dentro de este binomio básico de exclusión – tolerancia, existe toda una gama de procesos adaptativos. Como indican Barceló y Poschenrieder (1992), es muy difícil dar una pauta de la importancia relativa de cada uno de los mecanismos que pueden intervenir en la resistencia, más ligada a las características de cada especie que a mecanismos generales. Mientras en algunas plantas radica en su gran plasticidad fenotípica, en otras tiene una clara base genética, que parece depender de varios genes con carácter aditivo y dominante, aunque también se han hallado casos de resistencia ligada a un único gen.

Habría que distinguir, además, entre respuestas de aclimatación, a corto plazo, y de adaptación, a largo plazo, ya que pueden implicar la presencia (necesidad) de distintos mecanismos de respuesta. Los mecanismos de resistencia pueden interaccionar, no sólo en función de su propia naturaleza, sino también en función de las condiciones medioambientales (Rengel, 1997). Como indican Macnair *et al.* (2000), la tolerancia/resistencia es la manifestación de una interacción genotipo – medioambiente, muchas de cuyas bases genéticas no se conocen bien.

La mayoría de las revisiones efectuadas sobre el tema consideran las estrategias exclusoras o de tolerancia como los mecanismos básicos de resistencia (Barceló y Poschenrieder, 1992; Rengel, 1997; Greger, 1999; Siedlecka *et al.*, 2001).

Dentro de este marco general existe toda una amplia gama de respuestas dentro de cada mecanismo en particular. La “exclusión”, por ejemplo, puede



producirse tanto fuera como dentro de la planta, lo que, en ocasiones, ha conducido a interpretaciones diversas (Rengel, 1997).

En este sentido, resulta interesante la distinción realizada por Rengel (1997) entre *verdaderos* mecanismos de exclusión y de tolerancia, que siempre presentan un carácter muy definido, y los mecanismos que pueden ser de exclusión o de tolerancia, en función de que la lesión primaria causada por el elemento traza se produzca a nivel simplástico o apoplástico.

#### 1.3.3.1. Verdaderos mecanismos de exclusión

La exclusión de un elemento traza, puede ser puramente física, evitando la planta el crecimiento radical en zonas contaminadas del suelo, o mediante la liberación de exudados radicales que de alguna manera inmovilicen el metal. Además de la capacidad que tienen muchas plantas para modificar el pH y condiciones redox de la rizosfera (Hinsinger, 1998), la excreción de sustancias orgánicas a la rizosfera puede limitar la movilidad de elementos traza mediante la formación de complejos (Marschner, 1995; Rengel, 1997; Greger, 1999)

En el contexto que nos ocupa, la excreción de sustancias orgánicas constituiría un mecanismo de exclusión siempre que el complejo formado limitase la entrada del metal en la planta, ya que los exudados radicales también pueden potenciar la absorción de determinados elementos (Marschner, 1995; Siedlecka *et al.*, 2001). Como ejemplos de mecanismos de exclusión pueden citarse la complejación del Cu en la rizosfera de *Silene cucubalus* (Greger 1999) y la excreción de ácido málico y cítrico por el girasol ante elevadas concentraciones de Zn (Siedlecka *et al.* 2001).

Ahora bien, como indican Barceló y Poschenrieder (1992), una mayor capacidad de síntesis de ácidos orgánicos (málico, cítrico, isocítrico, succínico, aconítico, etc.) tampoco puede considerarse un mecanismo general y único frente a elevadas concentraciones de Zn o Al. Es más, según Rengel (1997), el aumento en la excreción de ácidos orgánicos que induce el Al en algunas plantas no se consigue con la adición de otros elementos traza.

En el caso del Al (denominado metal ligero por algunos autores, Prasad y Hagemeyer, 1999) cabría la posibilidad de que no fuese un efecto directo del elemento, sino más bien un efecto indirecto sobre otro patrón de señales celulares.

El mucílago excretado por células epidérmicas y del extremo de la raíz para proteger la zona apical de la desecación, entre otras funciones, puede limitar la entrada de elementos traza debido a su elevada capacidad de cambio y a su gran capacidad para formar complejos con metales pesados como Cd, Cu y especialmente Pb (Marschner, 1995).

La presencia de micorrizas ( ectomicorrizas especialmente) también puede limitar la entrada de metales pesados en la planta, mediante su secuestro en estructuras del hongo (mucílago de las hifas, paredes celulares y vacuolas del hongo; Leyval *et al.*, 1997).

La limitación de la absorción de metales por el mucílago (o mucigel) de la raíz y la presencia de micorrizas se podrían considerar como mecanismos indirectos de "exclusión", puesto que su existencia no es consecuencia de la presencia de elementos traza en el suelo.

#### 1.3.3.2. Mecanismos de exclusión/tolerancia

Según se indicó anteriormente, mientras determinados mecanismos de resistencia tienen un carácter inequívoco de exclusión o tolerancia (tolerancia del complejo celular a la presencia de elementos traza), existen otros mecanismos cuya definición requeriría conocer las características de la lesión primaria sufrida por la planta.

Entre estos mecanismos se pueden citar: i) uniones con la pared celular, ii) flujo de iones desde el citoplasma hacia el apoplasto y iii) limitación del transporte de iones metálicos hacia las partes superiores de la planta (Rengel, 1997).

Si la lesión primaria se produjese a nivel simplástico, serían mecanismos de exclusión, pero si se produjese a nivel de plasmalema, no serían verdaderos mecanismos de exclusión, sino más bien de tolerancia (de la membranas - plasmalema y tonoplasto- al paso de metales).

Los mecanismos referidos operan a distintos niveles (i y ii a nivel celular, iii a nivel de planta completa). Sin embargo, el tercer mecanismo sería consecuencia de un mecanismo previo, a nivel celular: compartimentación de metales en las vacuolas de células radicales, que limita su transporte hacia la parte superior de la planta. Los mecanismos de compartimentación en la planta (raíces, hojas viejas, otras estructuras) son consecuencia de un mecanismo previo que opera a nivel celular (Rengel, 1997).

La retención de metales en la pared celular se suele considerar como un mecanismo de "exclusión" (se "excluyen" metales de las zonas más delicadas del citosol). Ahora bien, según se ha indicado, si la lesión primaria ocurre ya a nivel apoplástico, sería un mecanismo de "tolerancia", a nivel de pared. La lesión primaria podría requerir la absorción del metal a través del plasmalema (esto es, que llegue al citosol, donde podría ser compartimentado), o la percepción de la señal de toxicidad a nivel de apoplasto y su transducción a los mecanismos internos de defensa correspondientes (Rengel, 1997).

El transporte radial de elementos traza puede ser simplástico o apoplástico, entendiendo por apoplasto todos los compartimentos que se sitúan "fuera" de la membrana plasmática, esto es, espacios interfibrilares e intermicelares de la pared, el xilema, así como los espacios intercelulares llenos de agua y gases (Sattelmacher, 2000).

Aparte de la "barrera física" que constituye la banda de Caspar para el transporte apoplástico (según Sattelmacher, 2000, no del todo impermeable), los elementos traza pueden experimentar toda una serie de interacciones con la pared celular que pueden limitar considerablemente su movilidad.

Estas interacciones pueden obedecer a fuerzas electrostáticas o a uniones más consistentes, con la formación de complejos e incluso precipitados amorfos de metales con fosfatos, carbonatos y silicatos (Siedlecka *et al.*, 2001).

Las interacciones electrostáticas se deben a la carga negativa de las paredes celulares, derivada de los grupos carboxílicos libres de ácidos galacturónicos (Sattelmacher, 2001). Este conjunto de cargas negativas constituye la capacidad de cambio catiónica de la planta, muy diferente de unas especies a otras y dependiente, incluso, de las condiciones medioambientales (Messiaen *et al.*, 1997; Sattelmacher, 2001).

Debido a estas interacciones, el apoplasto se denomina a veces espacio libre aparente, distinguiéndose dos zonas: espacio libre para el agua, más alejado de las cargas (iones y moléculas cargadas y no cargadas se pueden mover libremente) y espacio libre de Donnan, más cercano a las cargas, donde tiene lugar el cambio catiónico y repulsión de aniones (Marschner, 1995).

La afinidad por los ácidos poligalacturónicos de la pared decrece en el orden:  $Al > Pb > Cr > Cu > Zn \cong Mn$ . Por consiguiente, cationes como el Al o el Pb serían más difíciles de desorber, pudiendo ver ralentizado su paso al citosol. Pero para otros metales, con menor afinidad, una elevada capacidad de cambio facilitaría su

transporte al interior de la célula. Dependiendo de la densidad de carga negativa, estos iones pueden ser concentrados cerca de los sitios "activos" de absorción del plasmalema, originándose así un gradiente de concentración a través de la membrana que facilitaría su transporte hacia el interior de la célula (Greger, 1999).

Se asocia con frecuencia la resistencia a los metales (y al Al) con una baja capacidad de cambio, aunque existen datos contradictorios en la literatura (Rengel, 1997). Según Ernst *et al.* (1992), una mayor capacidad de cambio no tendría porqué disminuir la actividad de los iones metálicos libres (y potenciar su paso al interior de la célula) si la solución del suelo, la solución que baña la pared celular y la matriz de dicha pared se encuentran en equilibrio.

A nivel de pared, la resistencia también podría basarse en mecanismos no relacionados con la capacidad de cambio. Por ejemplo, las fosfatasas de la pared celular de plantas resistentes pueden formar complejos menos estables con los metales tóxicos, preservando así su actividad (Rengel, 1997), y sobre todo, podría estar basada en la formación de complejos estables con metales. Según Siedlecka *et al.* (2001), la pared celular es el principal compartimento para la inmovilización de Pb, y a veces Cu; algunos datos también sugieren que se puede acumular en ella una gran cantidad de Cd (Khan *et al.*, 1984).

Según Marschner (1995), la capacidad de retención de la pared es limitada, no superando un 10% de la cantidad total de metales absorbidos por metalofitas (Ernst, 1992); sin embargo, según Siedlecka *et al.* (2001), dependiendo de la especie vegetal y metal, puede ir desde cantidades muy bajas hasta más del 90% de la cantidad de metal absorbida. Parece tratarse, pues, de un mecanismo que debe ser estudiado con mayor profundidad.

El segundo mecanismo de exclusión/tolerancia (siguiendo la terminología de Rengel (1997), es el flujo de iones desde el citoplasma hacia el apoplasto, e incluso desde el apoplasto al medio circundante, no parece ser metabólico (Greger, 1999).

También se podrían considerar en este apartado las pérdidas gaseosas de metales (por ejemplo, Hg) a través de los estomas, así como diversos procesos de excreción de elementos traza a través de glándulas salinas y otras estructuras (Bringezu *et al.*, 1999; Siedlecka *et al.*, 2001), en los que, a diferencia de los verdaderos mecanismos de exclusión considerados previamente, el metal entra en la planta antes de ser excretado. De ahí que, dependiendo de la naturaleza de la

lesión primaria, puedan ser considerados mecanismos de exclusión o de tolerancia, según se indicó anteriormente.

#### **1.3.4. Verdaderos mecanismos de tolerancia**

Rengel (1997) considera como verdaderos mecanismos de tolerancia: i) formación de complejos en el citoplasma, ii) transporte del complejo a la vacuola, iii) almacenamiento de los iones metálicos en la vacuola mediante la formación de complejos con ligandos vacuolares y iv) formación de enzimas resistentes a los metales, que limiten sus efectos tóxicos.

Los tres primeros serían mecanismos de resistencia basados en la capacidad de la planta para mantener la estabilidad estructural del citosol, mediante procesos de complejación y compartimentación celular, mecanismos básicamente diferentes al último (síntesis de enzimas resistentes).

Se trata de mecanismos extremadamente importantes ya que las plantas que crecen en suelos contaminados acumulan inevitablemente metales, pues incluso contando con mecanismos de exclusión, éstos no son perfectos (Rengel, 1997). Los mecanismos de complejación/compartimentación (verdaderos mecanismos de tolerancia) resultan, pues, básicos, siendo considerados por la mayoría de los autores como la forma más generalizada, y efectiva, de resistencia (Barceló y Poschenrieder, 1992; Vázquez *et al.*, 1992a,b, 1994; Siedlecka *et al.*, 2001).

Los tres mecanismos indicados pueden ser considerados conjuntamente, ya que básicamente consisten en la formación de complejos en el citosol y vacuola, lo que requiere la existencia de sistemas transportadores efectivos en el tonoplasto (Ernst *et al.*, 1992; Rengel, 1997).

##### **1.3.4.1. Fitoquelatinas**

El estudio de las proteínas (péptidos) vegetales en la complejación de metales se inició *per analogiam* con las metalotioneínas animales (Siedlecka *et al.*, 2001). Una vez conocida su menor complejidad, y diferentes propiedades, se las comenzó a denominar "proteínas similares a las metalotioneínas" ("metallothionein-like", Robinson y Jackson, 1986), y también fitoquelatinas (Grill *et al.*, 1985). Las fitoquelatinas fueron incluidas en la clase III de las

metalotioneinas y designadas como metaltiolato-polipéptidos atípicos sintetizados sin traducción en algunas levaduras, algas eucariotas y plantas superiores (Barceló y Poschenrieder, 1992; Prasad, 1999; Siedlecka, *et al.* 2001).

Adecuada información sobre su estructura, síntesis y funciones básicas puede encontrarse en Prasad (1999), Goldsbrough (2000), Siedlecka, *et al.* (2001). Son proteínas muy abundantes en el reino vegetal, siendo las primeras en formarse ante la presencia de metales, por lo que se las considera clave en el proceso de desintoxicación. Otros péptidos de este tipo también pueden ser sintetizados en grandes cantidades, pero sólo tienen un papel secundario, aunque importante, en el proceso de desintoxicación (Siedlecka *et al.*, 2001).

A las fitoquelatinas se les atribuyen diversas funciones en la célula, por ejemplo, participan en el sistema homeostático que regula la disponibilidad de iones Zn y Cu para las apoformas, enzimáticamente inactivas, de enzimas que requieren metales (Prasad, 1999; Siedlecka, *et al.* 2001). Sin embargo, su función principal parece estar relacionada con los mecanismos de desintoxicación y tolerancia a metales. Los metales tóxicos inducen una rápida síntesis de fitoquelatinas en el citosol, con las que forman complejos no tóxicos. Se trata de un mecanismo especialmente importante para Cd y Cu.

La eficacia del mecanismo parece radicar en el transporte eficaz a la vacuola del complejo formado en el citosol. Una vez en la vacuola, el complejo sería disociado, formando el Cd un complejo más estable, probablemente con ácidos orgánicos (Rengel, 1997). La presencia a nivel del tonoplasto de adecuados sistemas ATPasa y/o antiporte  $H^+/Cd^{++}$  resulta imprescindible para este proceso, aunque quedan por aclarar los mecanismos de transporte.

La producción diferencial de fitoquelatinas es una consecuencia, más que la causa, de la resistencia a metales pesados. Su síntesis puede ser inducida por muchos metales tanto en genotipos resistentes como no resistentes. Es más, se ha comprobado que plantas resistentes de *Silene vulgaris* generaban menos fitoquelatinas que las sensibles, ante la presencia de Cd (Rengel, 1997).

Además de las fitoquelatinas, es posible que algunas metalotioneinas de la clase II puedan participar en el proceso de desintoxicación de metales (Siedlecka *et al.*, 2001). Tampoco se conoce con exactitud el posible papel que puedan tener, como mecanismo de resistencia, ciertos polipéptidos de bajo peso molecular que se acumulan en el apoplasto de algunas plantas sometidas a cantidades altas de Zn (Rengel, 1997; Blinda *et al.*, 1997). La ferritina (proteína que almacena Fe)

puede formar quelatos con metales pesados antes de la síntesis de fitoquelatinas (Patra y Panda, 1998).

Determinados aminoácidos también pueden complejar metales (especialmente Cu) en el citosol. Además de su función desintoxicadora, estos complejos podrían ser importantes para el transporte xilemático y floemático del elemento, ya que evitarían su precipitación y adsorción en las paredes celulares (Siedlecka *et al.*, 2001). La histidina parece jugar un papel importante en la resistencia al Ni, así como para su transporte xilemático en la hiperacumuladora *Alyssum lesbiacum* (Krämer *et al.*, 1996).

#### 1.3.4.2. Ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos constituyen un importante verdadero mecanismo de tolerancia a nivel simplástico, aunque también participan activamente en la complejación e inmovilización de metales (por ej. Zn) en la vacuola (Rengel, 1997). A nivel de hoja se han detectado aumentos de ácido cítrico, ante acumulaciones de Ni, en 17 especies acumuladoras de este metal, y de ácido málico, como respuesta a la toxicidad debida al Zn en *Silene cucubalis* y otras plantas (Rengel, 1997).

Según la hipótesis de Mathys (1977) el complejo Zn-málico actuaría como lanzadera para transportar el Zn a la vacuola, donde se disociaría, uniéndose el Zn a ligandos más potentes a bajo pH, como cítrico u oxálico, fitatos, antocianinas, glucósidos, o almacenado en forma de cristales. El málico sería transportado de nuevo al citosol.

Ahora bien, como indica Rengel (1997), puede resultar más ilustrativo estudiar la dinámica y distribución de los precursores comunes de la biosíntesis de ácidos orgánicos, que la determinación de alguno de ellos, cuya presencia ocasional puede no responder a un verdadero mecanismo de resistencia. La producción y acumulación de cantidades elevadas de ácidos orgánicos no es específica para un determinado metal o especie vegetal, y no siempre va unida a la tolerancia a un metal dado (Siedlecka *et al.*, 2001). Una mayor capacidad de síntesis de ácidos orgánicos no se puede considerar como un mecanismo general de tolerancia a metales (Barceló y Poschenrieder, 1992).

#### 1.3.4.3. Transporte y acumulación en vacuolas

La importancia del transporte y acumulación en vacuolas ya se ha comentado; este proceso puede representar, para muchas plantas, la base de su resistencia a los metales. Entre otras razones, puede limitar su transporte hacia órganos superiores cuando la acumulación vacuolar se realiza a nivel de raíz; mecanismo considerado por Rengel (1997) como de exclusión (si la lesión primaria se produce a nivel simplástico) o de tolerancia (si se produce a nivel de membrana plasmática).

Este mecanismo sería especialmente importante para la resistencia a Zn y Ni, y en menor medida para Cu, Pb y Cd (Rengel, 1997). Además de ácidos orgánicos, otras sustancias pueden formar complejos estables con los metales en la vacuola (Vázquez *et al.*, 1995). Cuando la capacidad vacuolar se satura, es probable que la planta muera. En este sentido, resulta importante la capacidad de algunas plantas de aumentar su nivel de vacuolización (aumento del volumen vacuolar, incluso en células meristemáticas) ante la presencia de determinados metales pesados. Sin embargo, en muchos casos parece tratarse de una respuesta adaptativa de plantas sensibles, más que de un verdadero mecanismo de resistencia de genotipos resistentes, que presentan menor aumento, ante un ya de por sí elevado volumen vacuolar (Rengel, 1997).

#### 1.3.4.4. Enzimas resistentes a los metales

El último verdadero mecanismo de resistencia considerado por Rengel (1997) sería la formación de enzimas resistentes a los metales, lo que minimizaría sus efectos tóxicos. Aunque no parece demostrada la existencia de estas formas enzimáticas en el citosol, a nivel de pared celular sí que existen enzimas “más resistentes” en los genotipos tolerantes. La fosfatasa ácida unida a la pared celular puede formar complejos menos estables con los metales en las poblaciones resistentes (Ernst *et al.*, 1992).

Determinados enzimas son inducidos bajo la presencia de metales, por ejemplo, diversos enzimas relacionados con el estrés oxidativo. Pero como indican Van Assche y Clisters (1990), la inducción enzimática puede ser considerada como un efecto indirecto derivado de la toxicidad de los metales (para eliminar radicales libres), lo que implica que el enzima inducido tiene que poseer un mínimo de tolerancia ante la presencia del metal.

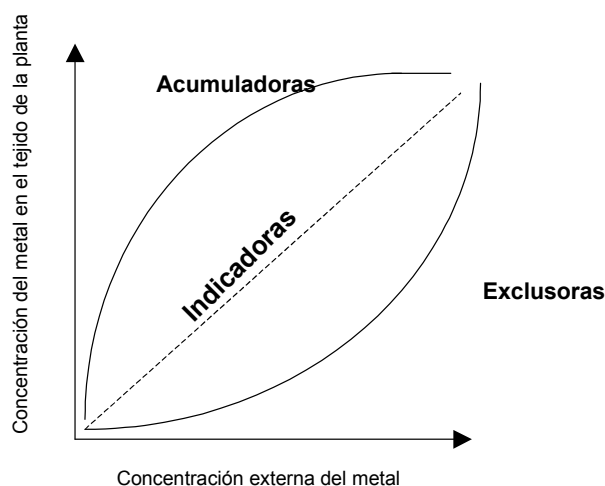


El éxito de la planta radicaría pues en una adecuada capacidad de inducción. Los enzimas normalmente presentes en el citosol de plantas resistentes son, en general, tan sensibles a los metales como los de plantas no tolerantes (Ernst *et al.*, 1992).

#### 1.4. BIODIVERSIDAD VEGETAL BASADA EN LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA.

Los mecanismos de resistencia pueden variar en función de la especie de planta, de la fase de crecimiento en que se encuentre, órgano o tejido, metal, tiempo de acción, concentración y otros muchos factores exógenos y endógenos (Siedlecka *et al.*, 2001).

No son mecanismos fáciles de identificar, debido a su gran variedad y complejidad. Muchas veces es muy difícil decidir cuándo la absorción de un metal ha sido baja, "normal" o alta. Con carácter orientativo, Markert (1994) proporcionó lo que puede considerarse como un "perfil tipo" de concentración de Al y metales en plantas superiores.



**Figura 1.1.** Tipos de absorción de las plantas ante la presencia de metales en el suelo (Baker, 1981).

Existen unas tendencias generales, descritas por Baker (1981), que permiten clasificar las plantas superiores en tres grandes grupos, en función de los mecanismos de resistencia a los elementos traza (Fig 1.1):

a) Plantas con **estrategia exclusora**: plantas que son capaces de mantener una baja concentración de elementos traza en su parte aérea. No obstante, las barreras que limitan la absorción y transporte de metales pueden perder su funcionalidad ante concentraciones externas excesivas (niveles tóxicos), aumentando entonces su concentración en los tejidos de la planta, a veces hasta niveles letales. En estas plantas la razón de concentración del metal entre la parte aérea y la raíz es mucho menor que uno.

b) Plantas con **estrategia acumuladora**: mediante un transporte eficaz desde la raíz, el elemento traza es acumulado preferentemente en la parte aérea, resultando una razón de concentración entre parte aérea y raíz mayor que uno.

c) Plantas **indicadoras**: la concentración interna del metal refleja su concentración externa, gracias a la regulación de la absorción y transporte a la parte aérea. En este caso no se produce un aumento fuerte, inicial, de la concentración del metal en la planta ante bajas concentraciones del medio, ni tampoco una marcada exclusión del mismo. La razón de concentración entre parte aérea y raíz se mantiene próxima a uno.

Existen, además, plantas "hiperacumuladoras", término acuñado por Brooks *et al.* (1977) para plantas que acumulan más de 1000 µg Ni/ g (es decir, 0,1 %). Aunque el factor de acumulación (umbral, siempre muy alto en estas plantas) varía considerablemente en función del metal considerado. Para Mn y Zn se establece un umbral mayor del 1 %, 0,1 % para Cu, Co, Cr, Ni y Pb, 0,01 % para el Cd y 0,0001 % para el Au (Baker y Brooks, 1989).

También existen plantas hiperacumuladoras de As (Porter y Petersen, 1975; De Koe, 1994; Bech *et al.*, 1997), destacando algunos helechos estudiados recientemente, como *Pteris vittata* (Ma *et al.*, 2001; Lombi *et al.*, 2002) y *Pityrogramma calomelanos* (Francesconi *et al.*, 2002). En los helechos, el carácter hiperacumulador ha aparecido recientemente, en términos evolutivos (Meharg y

Hartley-Whitaker, 2002) y, como en otras muchas plantas, parece estar basado en su capacidad de compartimentación, probablemente en la vacuola (Lombi *et al.*, 2002).

Las plantas hiperacumuladoras se han utilizado para diversos fines, por ejemplo, como plantas "indicadoras" de zonas contaminadas, para prospecciones minerales, en fitoarqueología (para detectar antiguos asentamientos de actividades humanas), fitorremediación (fitorrecuperación) y fitominería (para detectar menas metalíferas, o suelos muy mineralizados) (Siedlecka *et al.*, 2001).

Algunos autores han distinguido entre "indicadores geobotánicos" e "indicadores biogeoquímicos". Las primeras, con estrategias exclusoras, indicadoras o acumuladoras, aparecen preferentemente en suelos contaminados por elementos traza, sin que necesariamente se produzca bioacumulación; las segundas, indicadores biogeoquímicos, suelen ser plantas con estrategias indicadoras o acumuladoras, cuyo poder indicador se basa en el análisis del contenido metálico (bioacumulación) en sus tejidos (Siedlecka *et al.*, 2001).

Existen, otros enfoques y terminologías, que convierten el concepto de plantas indicadoras en un tema muy complejo, y aunque debatido, no siempre resuelto. Markert *et al.* (2003) distinguen entre organismos "bioindicadores" y "biomonitores", así como entre bioindicación "activa" y "pasiva".

Un **bioindicador** sería un organismo (o parte de un organismo, o una comunidad de organismos) que contiene información sobre la *calidad* del medio. Un **biomonitor** contiene aspectos *cuantitativos* de la calidad medioambiental. Un biomonitor es siempre bioindicador, pero un bioindicador no siempre presenta los requerimientos de un biomonitor (Jamil, 2001; Markert *et al.*, 2003).

En cierto modo, podría establecerse cierto paralelismo entre indicadores geobotánicos y bioindicadores, por un lado, y entre indicadores biogeoquímicos y biomonitores, por otro.

Cuando se estudian procesos de acumulación, es frecuente encontrar los términos "biomagnificación", absorción a través de los epitelios intestinales de animales, que no afectaría a elementos que forman compuestos muy volátiles, como As y Hg, y "bioconcentración", referida a la absorción directa del medio circundante, y que concierne fundamentalmente a animales acuáticos y plantas (Markert *et al.*, 2003).

La bioindicación (o biomonitorización) sería "activa" cuando los bioindicadores (o biomonitores) fueran expuestos a condiciones estándar, durante

un período de tiempo definido, al final del cual se estimaría la reacción provocada, o se analizase la acumulación xenobiótica producida. En la biomonitorización "pasiva", se examinan las reacciones de organismos ya presentes (de forma natural) en el medio ambiente. Los organismos serían así clasificados en función de su origen.

Dentro de la biomonitorización pasiva, Weiss *et al.* (2003) relacionan numerosas especies de árboles; por ejemplo en Europa, destacan los trabajos realizados con álamo, abeto, pino, haya y robles. También destaca el uso frecuente de gramíneas, prestando siempre en este caso la debida atención a la contaminación con suelo.

En el estudio del Guadiamar se han seleccionado una especie de *Populus* (álamo blanco, *P. alba*), y una gramínea (Grama, *Cynodon dactylon*), como posibles biomonitores, al margen de que su estrategia sea acumuladora o indicadora (según la terminología de Baker, 1981). También se han estudiado aspectos de bioconcentración.

Se han estudiado aspectos de bioconcentración en una especie de *Quercus* (encina, *Q. ilex*) y en otra de *Olea* (Acebuche, *O. europaea*) en relación a su incidencia potencial en la red trófica. Los elementos traza pueden persistir en los suelos durante largos períodos de tiempo, convirtiéndose entonces en una fuente potencial de contaminación duradera para plantas y animales (Dupka y Miller, 1999). En la Figura 1.2. se muestran las principales vías de entrada de elementos traza en la red trófica.

Sus efectos tóxicos pueden afectar a los invertebrados del suelo, insectos herbívoros, invertebrados terrestres, vertebrados herbívoros, y humanos. En los suelos, la reducción de la biodiversidad puede conducir a una disminución de la actividad metabólica (menor descomposición de la hojarasca, mineralización del N y respiración del suelo) y enzimática (Scott *et al.*, 1985; Tyler *et al.*, 1989; Bengtsson y Travik, 1989; Naidu *et al.*, 2001; Stolt y Oscarson, 2002).

Los herbívoros (consumidores primarios, incluidos insectos, como los saltamontes, que suponen una gran biomasa de artrópodos en las praderas) juegan un papel fundamental en la acumulación y transferencia (biomagnificación) de elementos tóxicos a niveles tróficos superiores. Por ejemplo, ver ejemplos de la transferencia de elementos traza a través del sistema suelo-planta-herbívoro en Winder *et al.* (1999), Devkota y Schmidt (2000), Scheifler *et al.* (2002).

Los efectos de los metales pesados en cultivos, ganado y humanos han sido revisados por Gupta y Gupta (1998). Entre los numerosos ejemplos que existen sobre acumulación de elementos traza en animales domésticos podríamos citar los facilitados por Zantopoulos *et al.*, (1999), Palacios *et al.* (2002) y Liu (2003). Su acumulación en fauna salvaje también ha sido ampliamente documentada; pueden encontrarse ejemplos en el compendio de Proyectos de Investigación del Picover (CMA, 2003) y en tratados específicos de toxicología medioambiental (Wright y Welbourn, 2002).

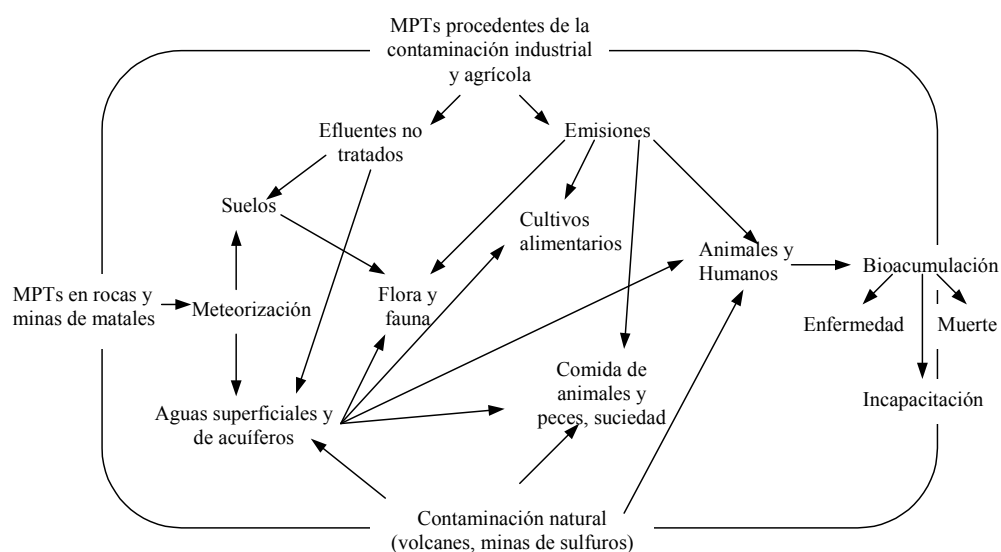


Figura 1.2. Vías de los Metales Potencialmente Tóxicos (MPTs) en el ecosistema procedentes de fuentes naturales y antropogénicas (adaptado de Siegel, 2002).

También se ha estudiado la bioconcentración en una especie cultivada (girasol, *Helianthus annuus*), en relación con su potencial en la fitorremediación, aspecto que se discute en el siguiente apartado.

### 1.5. RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR ELEMENTOS TRAZA.

Entre la abundante bibliografía sobre recuperación de suelos contaminados con elementos traza, se puede destacar las revisiones recientes de Saxena *et al.*

(1999), Kamnev y Van der Lelie (2000), Terry y Bañuelos (2000), Mukherjee (2001), Van der Lelie *et al.* (2001), Lasat (2002) y McGrath *et al.* (2002).

Las técnicas empleadas para remediar suelos pueden realizarse "ex situ" (fuera de la zona contaminada, lo que implicaría la toma y transporte de suelos) o "in situ", sobre el propio terreno. En este apartado sólo nos vamos a referir, brevemente, a las técnicas de fitorremediación, que utilizan plantas. Las técnicas restantes (de ingeniería) pueden verse en Saxena *et al.* (1999) y Mukherjee (2001), entre otros. La Tabla 1.9 recoge diversas técnicas de remediación de suelos, con y sin la utilización de plantas.

La utilización de plantas tiene como finalidad, en primer lugar estabilizar el suelo para evitar una dispersión física de contaminantes y, en segundo lugar, extraer con ellas la mayor cantidad posible de los mismos, dentro de lo que ya serían técnicas de fitorremediación (fitorecuperación) propiamente dichas.

**Tabla 1.9.** Técnicas de remediación actualmente disponibles, o en desarrollo, para suelos contaminados con metales pesados.

Método	Comentarios
<b><i>Ex situ</i></b>	
Solidificación	Adición de agentes cementantes que convierten suelos contaminados en materiales duros, no porosos y no lixiviables.
Tratamientos térmicos	Aplicable solo a suelos contaminados con mercurio.
Lavado	Extracción ácida o mediante quelatos.
Lixiviado	Baño o pila, lixiviada con ácidos o quelatos.
Tamaño, forma y densidad	Técnica para eliminar las partículas finas, con mayor concentración de metales.
Excavación de suelos	Retirada y eliminación de suelos.
<b><i>In situ</i></b>	
Solidificación	Según la descripción anterior.
Volatilización de contaminantes	de Tratamiento térmico.
Encapsulación	Cubrir los suelos con una capa impermeable.
Atenuación	Dilución con material no contaminado.
Electrocinesis	Introducción de corriente eléctrica por la que los iones se mueven a los electrodos.
Fitoestabilización	Fomentar el crecimiento de plantas para movilizar metales.
Fitoextracción	Eliminar los metales por medio de plantas.
Enmendantes de suelo	Reducen la biodisponibilidad de metales con P y otros enmendantes.

Adaptado de Mukherjee., 2001.

Estas técnicas pueden dividirse, según su naturaleza y aplicabilidad en: fitoextracción/fitovolatilización, rizofiltración, fitoestabilización y fitodegradación/fitoestimulación (Saxena *et al.*, 1999). Las técnicas más investigadas son posiblemente las de fitoextracción y fitoestabilización, aunque todavía están lejos de constituir una alternativa comercial de uso generalizado Lasat (2002).

Para que estas técnicas fueran efectivas, y se pudiesen recuperar extensiones grandes, muy contaminadas, las plantas a utilizar deberían reunir una serie de características que no se conocen en ninguna de las que se dispone hasta el momento.

Las plantas más prometedoras, las hiperacumuladoras, presentan todavía una serie de limitaciones que hacen inviable, hoy por hoy, la aplicación comercial, generalizada, de este tipo de técnicas. Como indican Kamnev y Van der Lelie (2000), la mayoría son muy selectivas en su absorción, de forma que sólo resolverían el problema de una forma parcial (la mayoría de los suelos contaminados lo están por más de un elemento traza); además, tres cuartas partes de las mismas están especializadas en la acumulación de Ni (Krämer *et al.*, 1996).

A estos inconvenientes hay que añadir que la intensidad de crecimiento y producción de biomasa suelen ser bajas, que no siempre se dispone de los suficientes conocimientos agronómicos para su cultivo, y que con frecuencia, sólo se pueden utilizar en su hábitat natural. Por consiguiente, es necesario conseguir nuevas plantas, o modificar determinados cultivos de alto rendimiento para su utilización en la fitorremediación (Kamnev y Van der Lelie, 2000).

La idea de transferir el carácter hiperacumulador de pequeñas plantas, de lento crecimiento, a cultivos de alto rendimiento, de crecimiento rápido, es un objetivo perseguido por numerosos investigadores. Como indica Lasat (2002), inicialmente se sugirió la mejora tradicional para tal fin (Cunningham y Ow, 1996; Chaney *et al.*, 2000), pero en la mayoría de los casos, diferencias anatómicas limitaban la compatibilidad sexual entre especies (Ow, 1996).

La biotecnología, transferencia directa de genes, aparecía entonces como la alternativa más apropiada para superar las limitaciones de la mejora tradicional. El hecho de que la tolerancia/resistencia a los metales pesados esté, aparentemente, regulada por uno o varios genes principales, facilitaba la transformación (Macnair

*et al.*, 2000), y de hecho ya se cuenta con plantas transgénicas, más resistentes a los metales (Lasat, 2002).

Aún así, y sin abordar toda la problemática socio-ecológica que plantea este tipo de plantas, autores como Ernst (2000) consideran más factibles tecnologías más sencillas (por ejemplo, la combinación de micorrizas resistentes a los metales con variedades de alto rendimiento, capaces de absorber y transportar determinados metales) que la transferencia de genes.

Y en último extremo, aún no se ha resuelto el problema más crítico: el adecuado reciclado de un material vegetal cargado de metales. Por el momento, y salvo casos puntuales, casi anecdóticos, de la separación de un metal, la técnica aplicada se ha limitado a transportar metales de un suelo contaminado a otro limpio (Ernst, 2000).

Con los medios actuales, para grandes extensiones de suelos agrícolas contaminados con metales (situación creada en el Valle del Guadiamar), parecen más factibles las denominadas técnicas "blandas" de recuperación de suelos "in situ" (Gupta *et al.*, 2000, Mench *et al.*, 2000).

Estas técnicas se basan, sobre todo para suelos agrícolas muy contaminados, en la inmediata implantación de una cubierta vegetal (puede tratarse de un cultivo razonablemente resistente) que estabilice el suelo y evite la erosión por el viento y el lixiviado, factores que contribuirían a diseminar los contaminantes. Esta medida debe ir acompañada de la aplicación de compuestos que inmovilicen (o inactiven) los elementos traza presentes en el suelo.

En este sentido, árboles de rápido crecimiento (sauces, álamos, alisos, e incluso eucaliptos) se han utilizado en estrategias que combinan la fitorremediación con la aplicación (reutilización) de aguas residuales y lodos de depuradora. Este tipo de estrategia (*short-rotation forestry*: SRF) ha sido introducida por la Agencia Internacional de Energía en países como Austria, Canadá, Dinamarca, Finlandia, Italia, Holanda, Suecia, Inglaterra, Estados Unidos y Brasil (Wood Supply Research Group, 1997; Punshon 2001). La utilización de árboles en trabajos de fitorremediación ha sido recientemente abordada por Pulford and Watson (2003) y Robinson *et al.* (2003), incluyendo estos últimos autores datos procedentes de la cuenca del Guadiamar.

Cuando se trata de un cultivo, o plantas que puedan ser aprovechadas, el coste de la biorrecuperación, bajo ya de por sí, puede reducirse mediante el valor



añadido que supone la producción de aceites (girasol), perfumes (lavándula, cilandro) u otros productos.

En el Guadiamar se ha estudiado un cultivo de girasol (crecimiento, composición mineral y rendimiento), como elemento estabilizador, y el uso potencial del suelo contaminado por el vertido tóxico de Aznalcóllar. Su aceite podría venderse con fines industriales. Se eligió este cultivo por su representatividad en la zona, y haberse utilizado en distintas técnicas de fitorrecuperación (Saxena *et al.*, 1999; Van der Lelie *et al.*, 2001).

Además de este cultivo, las especies autóctonas abordadas en el Guadiamar también pueden tener un papel importante en la estabilización de los suelos, en especial la grama, por su rápido establecimiento y desarrollo. Sin embargo, el estudio de las especies autóctonas se ha abordado, básicamente, bajo el prisma de la bioconcentración de elementos traza en tejidos vegetales y biomonitorización pasiva de la contaminación residual del área afectada.

## **2. OBJETIVOS**

Para la realización de este trabajo se seleccionaron diversas zonas de la cuenca del río Guadiamar afectadas por el vertido tóxico, junto a otras no afectadas (zonas de referencia, una incluso fuera de la cuenca), en las que se han estudiado diversas especies vegetales autóctonas (grama, álamo blanco, encina y acebuche) y un cultivo de girasol, en función de los siguientes objetivos:

### ***Suelos***

- Caracterización de los suelos de cada zona, prestando especial atención a su nivel de contaminación residual por elementos traza, que estaría definido por los contenidos totales de S (lodo residual), concentraciones totales de metales y metaloides y valores de PLI (índices de carga contaminante, mediante su comparación con valores normales en suelos no afectados y valores de fondo de la cuenca).
- Estudio de la fitodisponibilidad potencial de los elementos traza en el suelo mediante su extracción con un agente quelante que simule parcialmente la absorción de las plantas
- Estudio de la variabilidad temporal (tres años) de la fitodisponibilidad potencial.

### ***Plantas***

*Estado nutricional*

- Estudio de la influencia del nivel de contaminación de cada zona sobre la concentración de nutrientes básicos en cada una de las especies estudiadas (variabilidad espacial).
- Estudio de la variabilidad temporal (tres años) de los contenidos de nutrientes básicos de las especies autóctonas estudiadas.

#### *Bioconcentración y biomonitorización pasiva de elementos traza*

- Estudio de la concentración de los elementos traza Fe, Mn, Cu, Zn (micronutrientes / metales pesados), As (metaloide), Cd, Pb y Tl (metales pesados) en distintas fracciones de cada una de las especies estudiadas en cada zona de muestreo (variabilidad espacial).
- Estudio de la variabilidad temporal (tres años) de la bioconcentración de elementos traza en hojas y ramas del álamo blanco, encina y acebuche, parte aérea de la grama y frutos de encina y acebuche.
- Estimación del impacto que pudiera tener sobre la red trófica la bioconcentración de elementos traza en la pulpa y semillas de las acebuchinas (acebuche) y semillas de las bellotas (encinas), frutos muy consumidos por diferentes animales del área.
- Estimación del impacto espacio-temporal de la contaminación con polvo (suelo y atmósfera) mediante la determinación de elementos traza (en especial Fe, y Pb) en determinados órganos de las especies autóctonas seleccionadas (en especial, hojas de encina y parte aérea de la grama).
- Estudio de la utilización del álamo blanco (y grama) como especies bioindicadoras (bioindicación/biomonitorización pasiva) de la contaminación por elementos traza de la zona.

#### **Crecimiento y potencial de fitoextracción**

- Estudio de fisiológicos relacionados con el crecimiento y la nutrición (crecimiento relativo, alocación de biomasa, nutrientes y elementos traza; absorción y utilización de los mismos), en función del nivel de contaminación del suelo.
- Estudio de la utilización del girasol en trabajos de recuperación del suelo (como cubierta vegetal estabilizadora) y de su capacidad de fitoextracción.

### **3. AREA DE ESTUDIO**

La cuenca del Guadiamar se encuadra en un clima mediterráneo subhúmedo, caracterizado por temperaturas suaves y precipitaciones irregulares a nivel interanual. En consonancia con el ritmo variable de las precipitaciones, el río Guadiamar tiene un régimen fluvial torrencial, caracterizado por grandes fluctuaciones entre las avenidas invernales en las que se alcanzan caudales máximos cercanos a los 750 m<sup>3</sup>/seg y un fuerte estiaje en verano en el que su caudal se reduce drásticamente.

Durante varios miles de años los pobladores de este territorio han obtenido de la cuenca, los cauces fluviales y la llanura de inundación del Guadiamar múltiples bienes y servicios, pero la intensa presión humana ejercida durante los últimos siglos ha ocasionado la pérdida de funcionalidad de muchos de sus ecosistemas.

Como consecuencia de la presión agrícola, el río se ha ido constriñendo paulatinamente en un solo brazo principal y los antiguos bosques que cubrían su cuenca media y baja se han convertido en pequeños fragmentos de formaciones arbustivas y matorrales que, a modo de islas, salpican una extensa matriz agrícola. Su vegetación de ribera ha quedado reducida a pequeños bosquetes y las aguas de su cauce principal se han visto fuertemente contaminadas por vertidos urbanos y agroindustriales (CMA, 2001).

La minería, concentrada en el núcleo de Aznalcóllar, constituye una actividad en declive dentro del panorama general de la minería andaluza y con escasas perspectivas de futuro. Además, por su ubicación en la cabecera de la cuenca y por el elevado riesgo ecológico que genera su proceso industrial, mantiene el desarrollo de una gran parte de la cuenca baja sometido a un fuerte régimen de dependencia.

Como resultado de este proceso secular de transformación del territorio y los usos del suelo, la cuenca del Guadiamar ha perdido las dos funciones naturales más importantes que desempeñaba en su estado primitivo: la de servir de corredor de especies y procesos naturales entre la sierra y el litoral y la de agente primordial en el régimen de inundación de las marismas del Guadalquivir. El proyecto del Corredor Verde trata fundamentalmente de recuperar la primera de estas funciones.

En cuanto a la calidad ambiental de las aguas, el Guadiamar se ha visto tradicionalmente afectado por vertidos mineros en su tramo superior y de tipo urbano-industrial en su tramo medio. Esta situación experimentó una cierta mejoría tras la construcción del embalse del Agrio, que retiene los efluentes de la zona minera de Castillo de las Guardas permitiendo su autodepuración, y por las mejoras en el sistema de depuración y vigilancia en las minas de Aznalcóllar. En cuanto a los vertidos urbanos e industriales procedentes principalmente de actividades agroalimentarias, se supone que van a ser objeto de un mayor control debido en parte al Plan de Saneamiento (CMA, 2001).

Geológicamente se pueden distinguir dos grandes zonas bien caracterizadas: el zócalo de Sierra Morena, con rocas metamórficas e ígneas (pizarras, micaesquistos, granitos, dioritas, etc.), y el Valle del Guadalquivir, caracterizado por depósitos cuaternarios (arenas, rañas, gravas, margas, limos, etc.). Este último presenta dos subzonas: una con materiales margosos (Aljarafe) y otra con materiales arenosos y limosos (raña y marismas).

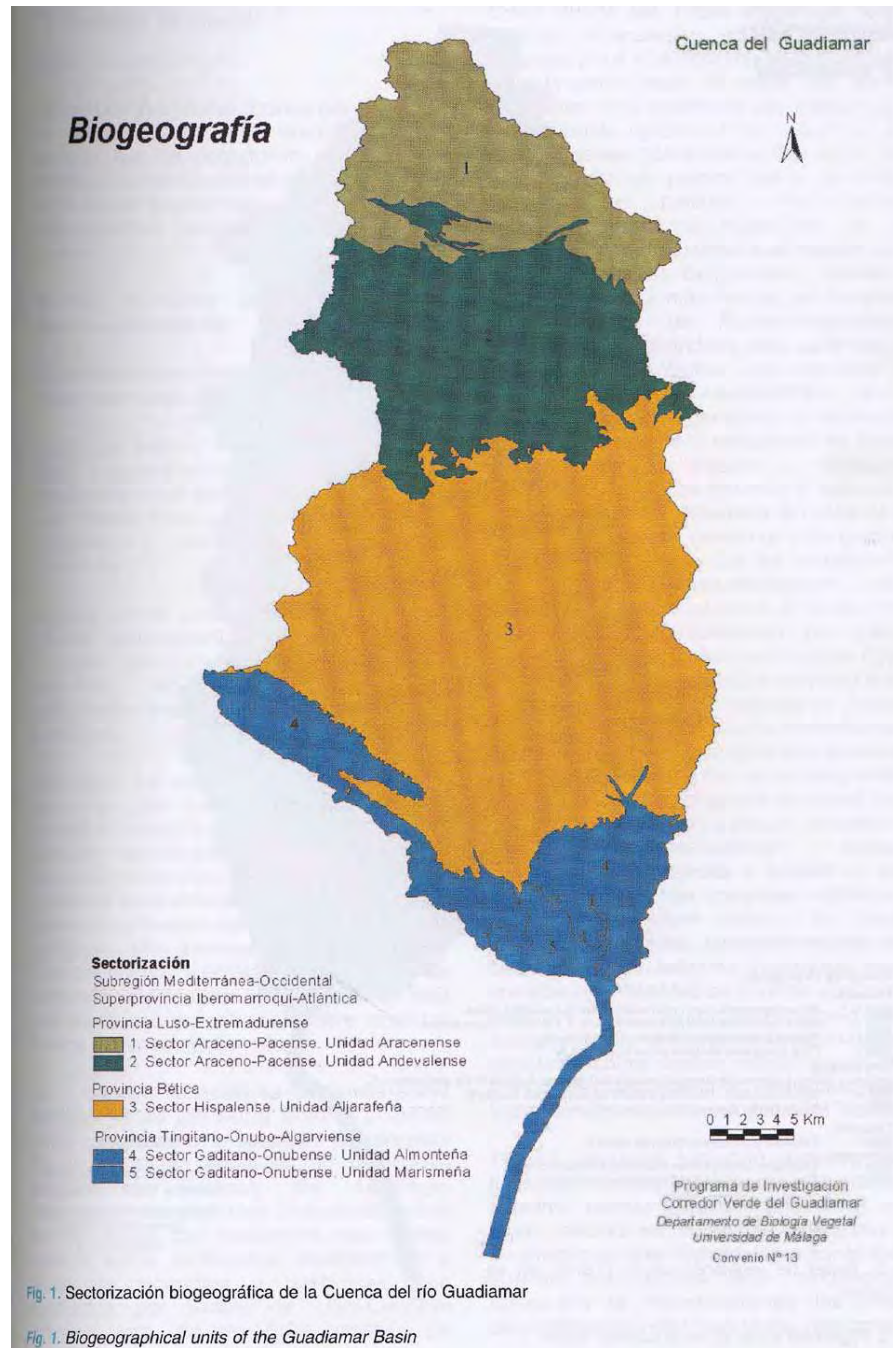
Los suelos van a depender de las características de la roca madre, pendiente, vegetación, etc., existiendo grandes signos de erosión en Sierra Morena y una mayor conservación en la zona del valle (Cabezudo et al., 2003).

#### *Biogeografía de la Cuenca del río Guadiamar*

La Cuenca del río Guadiamar se encuentra situada en la subregión Mediterránea-Occidental y dentro de ella participa de tres provincias biogeográficas ibéricas y norteafricanas con sus correspondientes sectores (Fig. 3.1):

El sector Araceno-Pacense (unidad Aracenense + unidad Andevalense) incluye toda la Sierra Morena Occidental y está caracterizada por materiales silíceos (ígneos y metamórficos), pisos bioclimáticos termo y mesomediterráneos y

ombrotipo subhúmedo. La vegetación presenta co-dominancia de alcornocales y encinares;



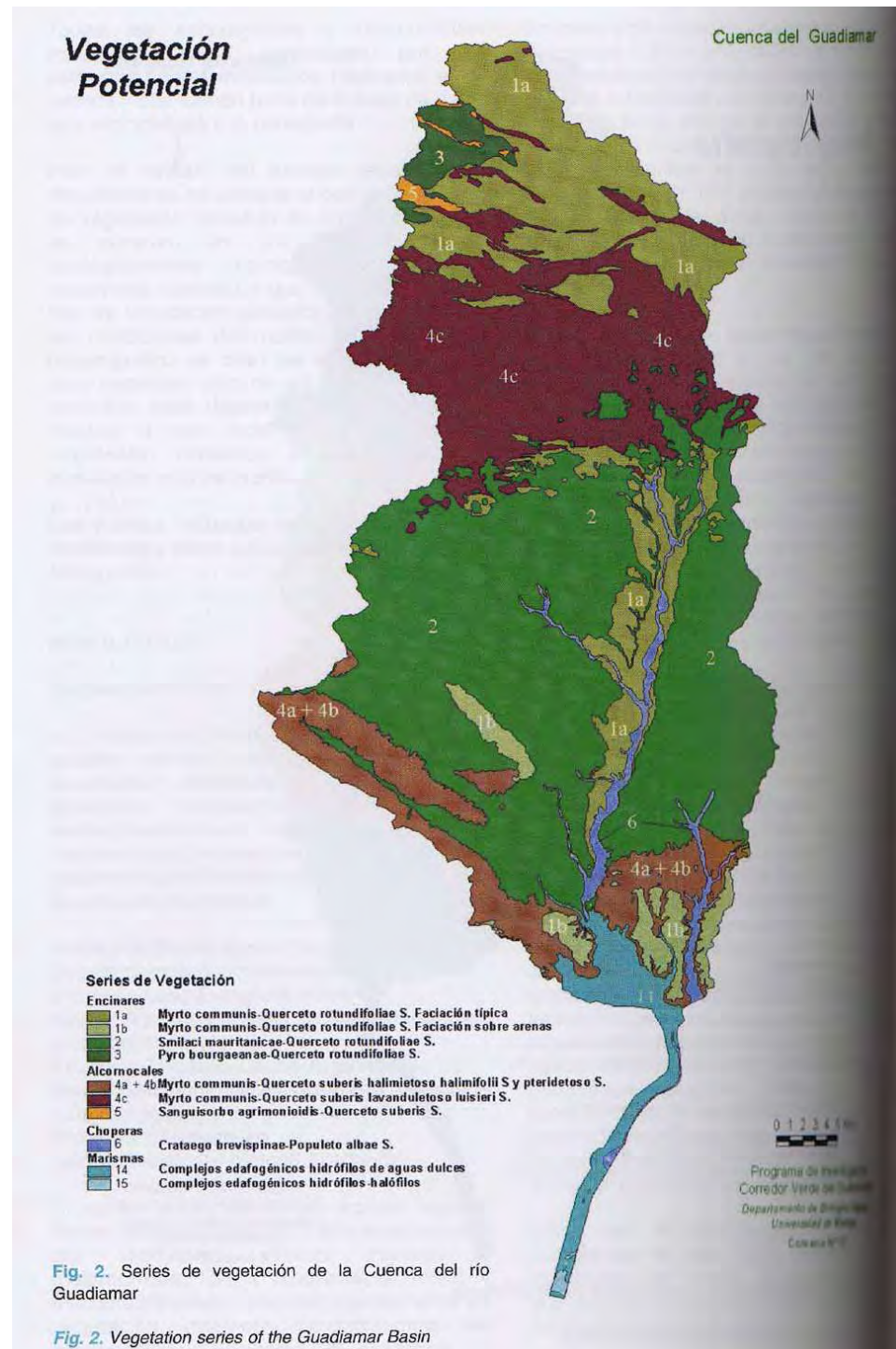
**Figura 3.1.** Sectorización biogeográfica de la Cuenca del río Guadianar (tomado de Cabezudo *et al.*, 2003).

existen también brezales y especies endémicas como *Ulex eriocladus* o *Erica andevalensis* y especies diferenciales como *Alnus glutinosa*, *Securinega tinctoria* o *Halimium ocymoides*. En la cuenca, ocupa la parte alta de la misma. La unidad Aracenense está configurada por los materiales ígneos al norte de la Cuenca, mientras que la unidad Andevalense corresponde a la franja pirítica de Sierra Morena, desde Minas del Castillo hasta la zona de Aznalcóllar con materiales silíceos metamórficos.

El sector Hispalense ocupa exclusivamente la unidad Aljarafeña y es un territorio prácticamente deforestado por su aptitud agrícola. Los sustratos son generalmente básicos (margas, caliza, calcarenitas) con islas de materiales arenosos en la parte sur y con depósitos cuarcíticos silíceos a lo largo del Guadiamar. El piso bioclimático es termomediterráneo y el ombrotipo subhúmedo tendente a seco. La vegetación potencial correspondería a encinares termófilos y basófilos con acebuches. Son especies diferenciales algunos caméfitos basófilos como *Thymbra capitata* o *Teucrium lusitanicum* (Cabezudo et al., 2003).

El Sector Gaditano-Onubense (unidad Almonteña + unidad Marismeña) ocupa la parte baja de la cuenca del Guadiamar, caracterizada por las marismas de Doñana (unidad Marismeña) y las rañas y arenales cuaternarios que la bordean (unidad Almonteña). Los materiales litológicos fundamentales son depósitos de guijarros cuarcíticos y arenas silíceas en zonas más elevadas y limos y arcillas en la marisma. El piso bioclimático es el termomediterráneo y el ombrotipo mayoritariamente seco, aunque con zonas subhúmedas hacia el noroeste. En esta zona es posible encontrar vegetación medianamente conservada como acebuchales, lentiscales, alcornocales psammófilos, pinares, jaguarzales psammófilos y vegetación de aguas dulces, aguas y suelos salobres y marismas. Algunas especies son características de este sector, como *Halimium commutatum*, *Cistus libanotis*, *Ulex australis* (unidad Almonteña) o *Cressa cretica*, *Crypsis aculeata* y *Suaeda vera* (unidad Marismeña).

Estos tres sectores biogeográficos de la Cuenca reflejan las condiciones tanto físicas como florísticas y fitocenológicas (Cabezudo et al., 2003). En la Figura 3.2 aparecen detalladas las series de vegetación de la Cuenca del río Guadiamar.



**Figura 3.2.** Series de vegetación de la cuenca del río Guadamar (tomado de Cabezedo et al., 2003).



## **4. MÉTODOS GENERALES**

### **4.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

#### ***4.1.1. Preparación de las muestras de suelo***

##### *Secado, Tamizado y Molienda*

Las muestras de suelo se extendieron en bandejas y se secaron en una estufa con circulación de aire forzado a una temperatura de 45°C, durante el tiempo necesario para su total secado, siendo éste incluso de varios días.

Una vez secas, las muestras fueron sometidas a un primer proceso de homogeneización y tamizado a través de una malla de 2 mm de paso de luz. Después de este primer proceso, las muestras se guardaron en frascos de plástico para su posterior almacenamiento .

La granulometría de estas muestras es adecuada para las determinaciones de rutina de fertilidad de suelos (pH, conductividad eléctrica, nutrientes disponibles, textura), en lo que respecta a la representatividad de la submuestra tomada para el análisis. Sin embargo, la determinación de metales pesados con agua regia, por el pequeño tamaño de la submuestra que se pesa para el análisis, y para una mayor eficacia del ataque ácido, requiere un menor tamaño de partícula. Para este análisis se procedió a la molienda de las submuestras en un mortero de ágata hasta que éstas adquirieron el tamaño de partícula deseado (< 50µm).

#### **4.1.2. Preparación del material vegetal**

##### *Lavado y secado*

Una vez en el laboratorio, en el caso de las gramas se separó la parte aérea, verde; en uno de los muestreos también se separó la parte seca y la raíz para su posterior análisis. En los árboles se separaron las hojas y ramas pequeñas, en el caso de los álamos, y en el caso de la encina y el acebuche también se seleccionaron los frutos. En el caso del girasol se separaron las siguientes fracciones: raíz, tallo y hoja en las plántulas (estado fenológico V4), en raíz, tallo, peciolo, hoja y cabeza (estados R2 y R5.5), y en el estado fenológico R8, se separaron además las semillas.

Para eliminar en lo posible la contaminación con suelo, cada una de estas fracciones fueron sometidas a un proceso secuencial de lavado de la siguiente forma: lavado con un detergente sin fosfatos, lavado con agua acidulada con HCl y por último lavado con agua destilada. Cada uno de estos lavados duró unos 10 segundos. Controlar el tiempo de lavado es importante para que la planta no pierda nutrientes durante el mismo. Parte de las muestras se secaron sin lavado previo, para estimar la contaminación externa (Markert, 1995).

Una vez lavadas, las muestras se secaron en una estufa de aire forzado a 70°C, al menos durante 48 horas.

Una vez secas fueron molidas en un molino IKA MF 10 de acero inoxidable y almacenadas en sobres Pergut, en cámara fría (a 5°C) hasta su análisis químico.

### **4.2. DETERMINACIONES ANALÍTICAS**

#### **4.2.1. Determinaciones analíticas en suelos**

##### *Granulometría de los suelos*

La granulometría se realizó en las muestras disgregadas y tamizadas (2 mm), mediante la metodología descrita por Gee y Bauder (1986), usando hexametafosfato sódico como agente dispersante. Las fracciones de arena gruesa (2-0,2 mm) y fina (0,2 mm-50  $\mu\text{m}$ ) se determinaron por tamizado en húmedo y posterior pesada. Las fracciones de limo (50  $\mu\text{m}$ -2  $\mu\text{m}$ ) y arcilla (< 2  $\mu\text{m}$ ) se determinaron mediante las lecturas obtenidas con un hidrómetro de Bouyoucos.

#### *Determinación de pH*

La determinación del pH se realizó en el extracto acuoso obtenido a partir de una mezcla de suelo-agua (relación 1:2,5), una vez centrifugada la misma a 3000 g durante 10 minutos. Se utilizó un pH-metro CRISON micro pH 2002, con compensación automática de la temperatura.

#### *Determinación de N-Kjeldahl*

La determinación de Nitrógeno Kjeldahl se llevó a cabo tratando las muestras de suelo (2 mm) con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizador de Se (mezcla  $K_2SO_4$  y Se) a 420°, en un bloque digestor TECATOR. Después de la digestión, las muestras se trataron con sosa al 40% y se destilaron en un sistema de destilación (KJELTEC). El destilado se recogió sobre una disolución de ácido bórico al 4% y posteriormente se valoró con ácido clorhídrico de normalidad conocida en presencia de rojo de metilo y verde de bromocresol. El contenido de N orgánico total se expresó como  $g\ g^{-1} \cdot 100$  (%) de N sobre muestra seca.

#### *Determinación de fósforo disponible*

El fósforo disponible se determinó por el método de Olsen (Olsen *et al.*, 1954), extrayendo el P con una disolución 0,1 N de  $NaHCO_3$  a pH 8,5 (relación suelo:solución 1:20) en presencia de carbón activo. En el extracto neutralizado se determinó el fósforo por colorimetría mediante el método de Murphy y Riley (1962). Los resultados se expresan como  $mg\ kg^{-1}$  de P sobre peso seco de suelo.

#### *Determinación de potasio disponible*

La determinación de K disponible se realizó mediante extracción con acetato amónico 1N (relación suelo:extractante 1:10) a pH 7 (Bower *et al.*, 1952). Su determinación posterior se llevó a cabo por fotometría de llama a 766,5 nm, en un equipo PERKIN-ELMER, frente a curvas patrón preparadas con la misma matriz que las muestras. Los resultados obtenidos se expresan como  $mg\ kg^{-1}$  K sobre muestra seca.

### Extracción de azufre y elementos traza

#### Extracción con *aqua regia*

Para obtener información acerca del nivel de contaminación global de los suelos de las zonas estudiadas, se realizó la extracción de metales pesados (y otros elementos químicos) con una mezcla de los ácidos HCl y HNO<sub>3</sub> (*aqua regia*). Aunque muchos autores se refieren a esta fracción de metales como fracción total (por ejemplo Vidal *et al.*, 1999), otros prefieren hablar de fracción *quasi* total, dado que en el ataque no se incluye HF, que disuelve la totalidad del suelo. De cualquier forma, la metodología que utiliza "aqua regia" está ampliamente contrastada en la bibliografía internacional y puede utilizarse con suficiente garantía para obtener una información más que suficiente del nivel de contaminación global por metales pesados de un suelo.

**Tabla 4.1.** Valores certificados, orientativos y obtenidos en el laboratorio del IRNAS (extraídos con *aqua regia*; media de seis repeticiones: mg kg<sup>-1</sup> sobre muestra seca). (Muestra de referencia CRM 277: sedimento de estuario)

Elemento	Valor certificado (concentración total)	Valor orientativo (aqua regia)	Valor obtenido (aqua regia)
Al	51400*		29186
As	43,7		36,7
Ba	320*		134
Ca	62500*		52221
Cd	11,9	10,7	8,65
Co	17*	11,6	13,5
Cr	192	146	153
Cu	101,7	97,2	107
Fe		41700	37091
K	16000*		7953
Mg	10000*		8738
Mn		1615	1550
Na	11000*		7949
Ni	43,4	34,9	37,5
Pb	146	138	106
S			5459
Zn	547	557	506

\*Valores orientativos.

El ataque de las muestras de suelo con la mezcla ácido nítrico: ácido clorhídrico (1:3 v/v) se realizó en vasos de teflón, herméticamente cerrados, en horno microondas. El efecto combinado de los ácidos, la temperatura y la presión en el interior de los vasos de teflón disuelve la muestra, salvo la sílice y los silicatos, y por tanto no se obtiene la fracción de metal estructuralmente asociada a estos compuestos.

Se partió de 0,5 g de muestra, al que se añadieron 1 ml de ácido nítrico concentrado y 3 ml de ácido clorhídrico concentrado, agitando ligeramente para que se mojara toda la muestra; las muestras se dejaron reposar 2 horas, tras lo cual se colocaron en el bloque digestor, cerrando los reactores herméticamente, para su ataque en horno microondas. Las muestras se sometieron a calentamiento mediante un proceso que implica una determinada secuencia de potencia/tiempo, conseguida siguiendo el manual de instrucciones del equipo. Este proceso duró 26 minutos. A continuación, los reactores se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente (en caso contrario la presión en el interior de los vasos puede resultar peligrosa), se abrieron (en vitrina de gases) y se diluyó el extracto obtenido a 50 ml. Se filtró y se guardaron los extractos diluidos en recipiente de plástico.

Para la extracción con "aqua regia" no se dispone de valores certificados, sino únicamente orientativos (muestra de CRM 277: Griepink y Muntau, 1988b). Con el fin de facilitar información sobre la capacidad de extracción de este reactivo, la Tabla 4.1 recoge los valores totales certificados para la muestra CRM 277, esto es, cuando se incluye HF en la extracción.

#### *Extracción de metales con EDTA*

La segunda metodología aplicada para el estudio de la contaminación de los suelos, se basa en la utilización de una solución que contiene un agente quelante, en nuestro caso el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).

A pesar de los inconvenientes que pueden plantear este tipo de agentes, como la disolución parcial de ciertos componentes del suelo (carbonatos, hidroxidóxidos), según se comentará con posterioridad, la utilización de agentes quelantes (EDTA y DTPA fundamentalmente) ha constituido uno de los mayores avances en el análisis de micronutrientes del suelo (Sims y Johnson, 1991).

Estos agentes reducen la actividad de los iones metálicos libres en la solución del suelo mediante la formación de complejos solubles metal-quelato.

Como respuesta a esta quelación, se produce un nuevo suministro de iones libres a la solución del suelo, desde la fase sólida. La cantidad de micronutrientes (metales en general) extractada por el agente quelante refleja así, tanto la concentración inicial en la solución del suelo (factor intensidad), como la capacidad del suelo para mantener esa concentración (factor capacidad). De esta forma, los agentes quelantes simulan la toma de nutrientes por las raíces vegetales y su restitución posterior desde las fases sólidas del suelo.

Siguiendo las indicaciones de Ure *et al.* (1993), se pesaron 2,5 g de muestra (tamaño de partícula < 2mm) en tubos de centrifuga añadiéndose 25 ml de EDTA 0,05 M (incluyendo un blanco únicamente con EDTA), agitándose posteriormente durante una hora a 20°C (comprobando la temperatura de la habitación y del líquido de extracción al principio y al final de la agitación). Una vez agitado se centrifugó a 10000 g durante 10 minutos, filtrándose el líquido (con papel Whatman 1) recogiendo en botes de plástico. Por último, los extractos se leyeron en ICP-OES (espectrometría de emisión con plasma acoplado inductivamente) para la determinación de elementos traza.

Para la comparación con valores certificados, se utilizó una muestra de referencia, concretamente la CRM 600 (Quevauviller *et al.*, 1997). Esta muestra fue tratada de forma similar a las restantes muestras de suelo, efectuándose la lectura de los distintos elementos mediante ICP-OES. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.2.

**Tabla 4.2.** Valores certificados y obtenidos en el laboratorio del IRNAS (extraídos con EDTA; medias de dos repeticiones) mediante ICP (mg kg<sup>-1</sup>). (Muestra de referencia CRM 600: suelo calcáreo).

Elemento	Valor certificado	Valor obtenido
Cd	2,68	2,61
Cu*	57,3*	90,6
Ni	4,52	4,80
Pb	59,7	63,0
Zn	383	>250

\* Valor orientativo, no certificado.

Puede comprobarse que en el caso del Cd, Ni y Pb, los resultados obtenidos en nuestros laboratorios son muy satisfactorios. Para el Cu, los valores obtenidos son superiores al valor orientativo facilitado por Quevauviller *et al.* (1997). No obstante, conviene tener en cuenta que la propia comisión indica en su informe

que la determinación de Cu extraído con EDTA plantea dificultades debido a la inestabilidad del complejo Cu-EDTA obtenido. Por consiguiente, y aun siendo válidos, los resultados obtenidos para Cu-EDTA en este trabajo deben ser contemplados con la debida cautela (Quevauviller *et al.*, 1997).

En cuanto al Zn, también conviene tener en cuenta que la elevada concentración de la muestra de referencia provocó la saturación de la línea correspondiente, por lo que resulta necesario introducir ciertas modificaciones en el sistema analítico del IRNAS. De cualquier forma, en ninguna de las muestras de suelo del Guadiamar se han obtenido concentraciones del orden de los 300 mg kg<sup>-1</sup> en las muestras de suelo analizadas.

#### **4.2.2. Determinaciones analíticas en plantas**

##### *Determinación del Nitrógeno Kjeldahl en plantas*

Las muestras molidas y secas se atacaron con sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador elaborado a base de Se (mezcla de Se y sulfato potásico) a 380°C durante 2h. El nitrógeno amoniacal se determinó por el método del indofenol en un autoanalizador Autoanalyzer II Technicon. Los resultados se expresaron como g g<sup>-1</sup>·100 (%) de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sobre muestra seca.

##### *Extracción y determinación de nutrientes y elementos traza*

El análisis del material vegetal se realizó mediante extracción total por vía húmeda, bajo presión en horno microondas. Para ello se pesaron 0,5 gramos de muestra molida y seca en vasos de teflón a los que se añadieron 4 ml de ácido nítrico suprapuro, agitando ligeramente para que se mojara toda la muestra. La mezcla se dejó reposar durante toda la noche en vitrina de gases. Transcurrido este tiempo, los reactores se cerraron herméticamente y se colocaron en el bloque digestor, que se introdujo en el microondas con un programa que implica una secuencia de potencia/tiempo determinada (aproximadamente unos 20 minutos). Una vez que el conjunto se enfría a temperatura ambiente, el extracto obtenido se llevó a volumen con agua desionizada. Posteriormente se filtró y se almacenó en botes de plástico hasta su lectura en ICP-OES e ICP-MS.

La lectura de los elementos traza As, Cd, Cu, Pb, Tl y Zn, se realizó mediante ICP-MS (espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente). Los nutrientes P, K, Ca, Mg, S y los micronutrientes Fe y Mn se determinaron mediante ICP-OES (espectrometría óptica con plasma acoplado inductivamente).

Paralelamente, se analizaron tres muestras de referencia (Colinet *et al.*, 1982 y Griepink y Muntau 1987, 1988a) mediante ICP-MS y ICP-OES para contrastar la precisión de la metodología empleada; los valores obtenidos para estas muestras se indican en la Tabla 4.3.

### **4.3. CUANTIFICACIÓN GLOBAL DE LA CONTAMINACIÓN DEL SUELO**

El grado de contaminación y penetración por metales pesados en los suelos afectados puede determinarse y compararse a partir del denominado índice de carga global de metales, PLI (*Pollution Load Index*) de Tomlinson *et al.* (1980). Este índice se basa en los valores de los Factores de Concentración (CF) de los distintos metales, que se obtienen al dividir la concentración de cada metal entre su valor de fondo, "background", (concentración en suelos no contaminados, bien del área de estudio, bien de otras zonas referidas en la bibliografía).

$$CF_i = C_{\text{metal pesado}} / C_{\text{fondo}}$$

$$PLI = (CF_1 \times CF_2 \times \dots \times CF_n)^{1/n}$$

Este índice proporciona de manera sencilla valores comparativos para conocer el nivel de contaminación de un suelo por metales pesados. Los valores de PLI cercanos a 1 indican una carga contaminante parecida al nivel de fondo (baja contaminación), mientras que valores de PLI mayores a 1 indican contaminación (Cabrera *et al.*, 1999).

### **4.4. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS**

La comparación de medias entre dos tratamientos (zonas afectadas y no afectadas) se realizó mediante el test de la *t*-Student. La variabilidad a lo largo de la cuenca (en lo que a contenido de elementos traza en suelos y plantas se refiere) se



estudió mediante análisis ANOVA de un factor, realizándose la comparación múltiple de medias post-hoc mediante el test de Tukey. Previamente, los datos se sometieron al test de Kolmogorov-Smirnov para comprobar si su distribución era normal. En caso contrario se procedió a su transformación logarítmica, probándose de nuevo el test de normalidad. Caso de no satisfacerse el test de Kolmogorov-Smirnov, se utilizó un test no-paramétrico (U de Mann-Whitney, para la comparación de medias y Kruskal-Wallis para el análisis de varianza). En todos los casos se empleó un nivel de significación  $p < 0,05$ .

Para los estudios de la correlación entre la concentración de elementos traza en el suelo y en la planta se aplicaron, bien el coeficiente de correlación de Pearson para datos normales (absolutos o transformados) o el de Spearman cuando no se cumple la normalidad, considerando niveles de significación  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ .

Las tendencias de variación conjunta de las concentraciones de elementos traza en suelo y plantas se realizaron mediante análisis multivariante, en particular de componentes principales (ACP).

Para el análisis estadístico de estos resultados se ha utilizado el paquete estadístico SPSS para Windows (© SPSS Inc., 1989-1999, Chicago, Illinois).

La influencia de los elementos traza sobre el aumento de biomasa vegetal con el tiempo (tasas de crecimiento relativo, RGR) y los cambios en composición mineral de las plantas (tasas de absorción y utilización específicas, SAR y SUR) se estimaron mediante las técnicas de análisis de crecimiento (Hunt, 1982, 1990). Estos métodos particulares se detallan en el capítulo 8.

**Tabla 4.3.** Análisis de nutrientes y elementos traza de las muestras de referencia (BCR) CRM 279, CRM 281 y BCR 62. Valores certificados y experimentales (valores medios  $\pm$  95% del intervalo de confianza, mg kg<sup>-1</sup> sobre materia seca). Los valores entre paréntesis son indicativos (no certificados). Los valores experimentales fueron calculados para N = 6 (lechuga de mar), N = 5 (ryegrass) y N = 5 (hojas de olivo).

Elemento	<i>CRM 279 (lechuga de mar)</i>		<i>CRM 281 (ryegrass)</i>		<i>BCR 62 (hojas de olivo)</i>	
	Certificado	Experimental	Certificado	Experimental	Certificado	Experimental
<b>N</b>	(2,05 $\pm$ 0,04)	1,70 $\pm$ 0,07	(3,32 $\pm$ 0,05)	3,17 $\pm$ 0,13	-	-
<b>P</b>	(1,80 $\pm$ 0,04)	1,50 $\pm$ 0,08	(2,30 $\pm$ 0,05)	2,15 $\pm$ 0,08	-	-
<b>K</b>	(13,9 $\pm$ 0,9)	13,0 $\pm$ 1,5	(35,2 $\pm$ 2,7)	31,6 $\pm$ 2,2	-	-
<b>Ca</b>	(27,4 $\pm$ 1,1)	30,8 $\pm$ 4,1	(7,20 $\pm$ 0,09)	6,75 $\pm$ 0,13	-	-
<b>Mg</b>	(14,4 $\pm$ 0,8)	14,1 $\pm$ 1,2	(1,66 $\pm$ 0,02)	1,59 $\pm$ 0,02	-	-
<b>As</b>	3,09 $\pm$ 0,20	2,69 $\pm$ 0,11	0,057 $\pm$ 0,004	0,118 $\pm$ 0,014	(0,20)	0,16 $\pm$ 0,016
<b>Cd</b>	0,274 $\pm$ 0,022	0,202 $\pm$ 0,007	0,120 $\pm$ 0,003	0,117 $\pm$ 0,005	0,10 $\pm$ 0,02	0,074 $\pm$ 0,009
<b>Cu</b>	13,14 $\pm$ 0,37	11,63 $\pm$ 0,73	9,65 $\pm$ 0,38	9,76 $\pm$ 0,09	46,6 $\pm$ 1,8	44,4 $\pm$ 2,5
<b>Fe</b>	(2300 $\pm$ 100)	2113 $\pm$ 72,3	-	-	-	-
<b>Mn</b>	(2030 $\pm$ 31,5)	1758 $\pm$ 64,8	81,6 $\pm$ 2,6	76,7 $\pm$ 0,4	57,0 $\pm$ 2,4	54,9 $\pm$ 0,46
<b>Ni</b>	(15,9 $\pm$ 0,4)	13,1 $\pm$ 0,53	3,0 $\pm$ 0,17	2,58 $\pm$ 0,15	-	-
<b>Pb</b>	13,48 $\pm$ 0,36	12,47 $\pm$ 1,09	2,38 $\pm$ 0,11	2,29 $\pm$ 0,07	25,0 $\pm$ 1,5	27,4 $\pm$ 1,32
<b>Tl</b>	(0,038 $\pm$ 0,01	0,027 $\pm$ 0,005	-	-	(0,03)	0,028 $\pm$ 0,002
<b>Zn</b>	51,3 $\pm$ 1,2	52,18 $\pm$ 3,29	31,5 $\pm$ 1,4	32,7 $\pm$ 0,2	16,0 $\pm$ 0,7	19,1 $\pm$ 0,65

## **5. CAMBIOS ESPACIO-TEMPORALES EN EL SISTEMA SUELO-PLANTA**

### **5.1. INTRODUCCIÓN**

El primer aspecto a estudiar en la zona contaminada por el vertido minero es la variabilidad en el espacio y en el tiempo de las concentraciones de elementos traza en el suelo y las plantas. Se ha seleccionado con este fin la grama (*Cynodon dactylon*) como especie focal.

La grama es una planta muy abundante en toda la zona de la cuenca del río Guadiamar. Su capacidad para tolerar condiciones de estrés (entre ellas la presencia de elementos traza en los suelos a concentraciones elevadas) la convierten en una planta útil para estudiar el impacto que pueden tener estos elementos sobre plantas superiores. Es una mala hierba de los cultivos de la zona y coloniza los suelos recuperados.

Además, puede ser utilizada para el estudio de las variaciones espaciales de la concentración de elementos traza dependiendo del nivel de contaminación de los suelos sobre los que crece (biomonitorización pasiva).

Otro de los motivos del estudio de esta herbácea, es que es una planta que los animales de la zona del Guadiamar utilizan como fuente de alimento; de ahí la necesidad del estudio de las concentraciones de elementos traza potencialmente tóxicos que puede alcanzar esta planta en el hábitat que nos ocupa, con más o menos importancia para el resto de la red trófica.

Además de estas razones, la grama es una especie que resulta adecuada para la estabilización de los suelos con elevada presencia de metales, siendo apropiada para la rehabilitación de zonas contaminadas; algunos autores incluso la consideran como especie fitoextractora para algunos metales (Barman *et al.*, 2000).

Este capítulo se ha centrado en el estudio de los niveles de elementos traza en la parte aérea de la grama durante tres años consecutivos (1999-2001), en función de los siguientes objetivos: 1) variabilidad espacial suelo – planta en función del gradiente de concentración de elementos traza en el suelo, 2) variabilidad temporal de estos elementos en la planta, 3) concentraciones de los elementos en las plantas : implicaciones para la red trófica y 4) posible uso de la grama como planta bioindicadora, fitoestabilizadora y fitoextractora en la cuenca del río Guadamar.

## **5.2. ESPECIE DE ESTUDIO**

La grama (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) es una planta rastrera, perenne, de hojas finas, que produce estolones que le ayudan a colonizar rápidamente nuevas áreas. Posee inflorescencias con 3 a 7 espigas formando un verticilo y espiguillas comprimidas con una flor bisexual.

La grama puede ser una mala hierba invasora y competidora, puesto que su extenso sistema de estolones le proporciona un rápido crecimiento (en muchas partes del mundo se considera como una maleza difícil de erradicar). A pesar de esto, requiere altas temperaturas y altos niveles de luz para crecer. Aunque es bastante tolerante a la sequía, tiende a crecer donde el agua está disponible casi todo el año.

Es una especie cosmopolita que crece en regiones templadas de ambos hemisferios, y en regiones altamente pastoreadas. Es una gramínea de alto valor nutritivo y resistente al pastoreo (Newman, 1992).

Necesita temperaturas cálidas para su crecimiento, siendo perjudiciales las heladas o temperaturas excesivamente bajas (normalmente necesita una temperatura media diaria de 24°C, con una máxima de 38°C, Holm *et al.*, 1977; Burton, 1978). También requiere una intensidad de luz adecuada, llegando a morir cuando está sometida a sombra permanente.

Crece en suelos con un amplio rango de pH; sin embargo tolera mejor los suelos alcalinos que los ácidos. Requiere gran cantidad de nitrógeno disponible para maximizar el crecimiento de su parte aérea, siendo este elemento a menudo limitante para su crecimiento.

Puede soportar condiciones edáficas adversas incluyendo toxicidad por metales (Wu y Antonovics, 1976). Aunque tolera un amplio rango de condiciones

edáficas, su crecimiento es mayor en suelos pesados y arcillosos, que en los ligeros y arenosos de regiones secas, debido posiblemente a la mayor capacidad de los suelos arcillosos para retener el agua (Burton, 1978). Puede soportar largos períodos de inundación, pero su crecimiento es menor sin una adecuada aireación del suelo.

Ha sido utilizada en varias partes del mundo como especie estabilizadora de suelos, una vez adaptada a las condiciones de la zona. Al ser relativamente tolerante a elevadas concentraciones de metales en el sustrato, puede ser una especie adecuada para la revegetación de suelos contaminados (McLaughlin *et al.*, 2000; Grant *et al.*, 2002; Wong, 2003).

En la cuenca del Guadiamar se encuentra la variedad *affinis* (una de las cinco variedades que se encuentran presentes en Andalucía Occidental) que ha sido estudiada en este trabajo. Se caracteriza por: tallos fértiles de 10-40 cm; hojas con limbo convoluto, rígido, subglabro o ligeramente hirsuto, glauco; espigas de 2,5 a 6 cm; espiguillas unifloras; lema glabra o con quilla ligeramente ciliada por pelos de 0,1-0,25 mm (Valdés *et al.*, 1987).

### 5.3. MUESTREO

#### 5.3.1. Descripción de los puntos de muestreo

Para la selección de los puntos de muestreo se tuvo en cuenta la presencia de la grama, procurando que fuese lo más abundante posible, y que los puntos también estuviesen siendo muestreados por otros equipos, con miras a posibles estudios multidisciplinarios posteriores, circunstancia que se dio en la mayoría de las ocasiones.

Los puntos de muestreo seleccionados fueron los siguientes (Fig. 5.1):

- *Puntos no afectados por el vertido* (establecidos como referencia, a efectos comparativos):

**1. GERENA** (GE: 37° 31' 39,5" - 6° 11' 19,5"). Punto muestreado en la margen izquierda (1999 y 2000) y derecha (2001, 37° 31' 27,7" - 6° 11' 18,4") del río Guadiamar, a la altura del puente de Gerena. En este punto, el río lleva poca agua en verano, aunque puede experimentar importantes crecidas durante la época de lluvias.

**2. SOBERBINA** (SO: 37° 27' 27" - 6° 12' 22,5"). Punto muestreado durante los 3 años de estudio en la margen izquierda del río. Está situado en la parte alta de la

vega aluvial de la finca Soberbina, término municipal de Sanlúcar La Mayor, en las inmediaciones del arroyo de Valdegallinas. Está suficientemente alejado del cauce del Guadiamar (algo más de 1 km) para asegurar que no fue afectado por el vertido; además es un buen punto de referencia al ser el sustrato parecido al del resto de los suelos afectados.

**3. RIVERA DE HUELVA** (RHU: 37º 29' 10,7" - 6º 1' 31,5"). Este punto sólo fue muestreado durante el otoño del tercer año de estudio (2001). Está situado en una zona, fuera del entorno del Guadiamar, cercana a un campo de cultivo de naranjos situado junto a la margen izquierda de la Rivera de Huelva. Sirve como punto de referencia externo a la cuenca del Guadiamar.

- *Puntos afectados por el vertido:*

4) **SOBERBINA-LODOS** (SO-L: 37º 27' 45" - 6º 12' 54,9"). Punto situado a unos 4,5 km de la mina, en la margen derecha del río. Las muestras vegetales fueron tomadas durante el otoño de los dos últimos años de estudio, en dos micro-hábitats diferentes. En el primer caso (año 2000), el muestreo se realizó en una dehesa de encinas y acebuches, a unos 50 m del cauce. Tras este muestreo, se realizó la incorporación de enmiendas en la zona; las labores realizadas debieron eliminar los "rodales" de grama, por lo que en el tercer año (2001), el muestreo se realizó en un pequeño talud muy próximo al cauce, totalmente inaccesible a las labores de limpieza y fuertemente contaminado con lodos (37º 27' 14,6" - 6º 13' 6,5").

5) **DOBLAS** (DO: 37º 23,5' 58" - 6º 13' 34,5"). Situado a 12 Km de la mina, bajo el puente que lleva el mismo nombre. El muestreo se realizó durante los tres años de estudio, muy cerca del cauce del río, en su margen izquierda, entre los árboles del bosque de ribera de esa zona.

6) **LAGARES** (LA: 37º 22' 27,4" - 6º 13' 42,4"). Situado a 15 km de la mina, bajo el puente del mismo nombre. Sólo fue muestreado el tercer año de estudio (2001). No se encontró grama en las proximidades del cauce, realizándose el muestreo a unos 200 m del mismo, en su margen derecha, en una zona llana donde la aplicación de enmiendas orgánicas había sido abundante. Las muestras de grama de este punto, serían representativas de las zonas mejor recuperadas del Corredor Verde del Guadiamar.

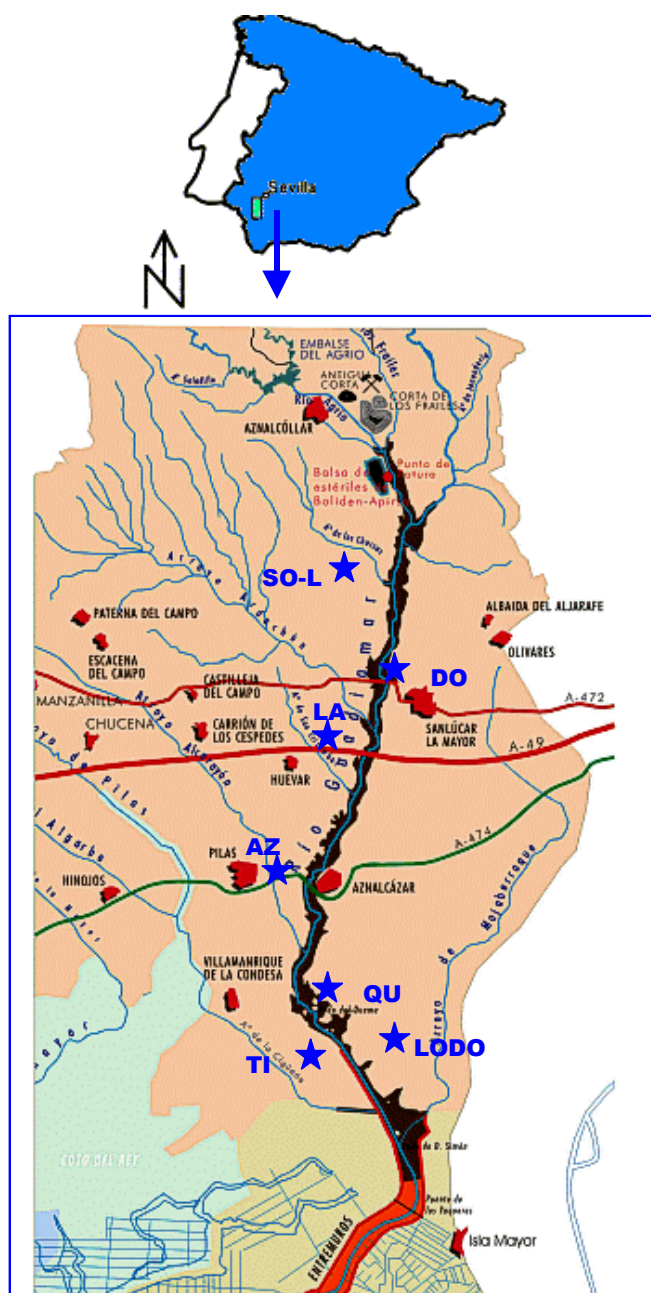


Figura 5.1. Localización de los puntos de muestreo afectados por el vertido (★) a lo largo de la cuenca del río Guadalquivir (modificado de CMA, 2001).

7) **AZNALCÁZAR** (AZ: 37° 18' 11,2" - 6° 15' 39,3"). Situado a 25 km de la mina, próximo al puente que lleva el mismo nombre. Fue muestreado durante los tres años de estudio, en la margen derecha del río. Durante los dos primeros años, las muestras se tomaron relativamente próximas al cauce (unos 10 m); en el tercer año se tomaron en una zona más alejada, unos 200 m, área sometida, como en el caso anterior, a una abundante aplicación de enmiendas orgánicas. Estas muestras (2001) también son representativas de zonas bien recuperadas del Corredor Verde.

8) **VADO DEL QUEMA** (QU: 37° 14' 46,3" - 6° 15' 53,4"). Situado a 31 km de la mina, en la margen izquierda del río. Fue muestreado durante el primer y último año de estudio. Las muestras se recolectaron en la parte baja de un pequeño talud próximo al cauce, bastante inaccesible a las labores de limpieza y, por consiguiente, fuertemente contaminado con lodos.

9) **LA TIESA** (TI: 37° 13' 44" - 6° 14' 36,4"). Situado a 38 km de la mina, en la finca del mismo nombre, próxima ya a las Marismas del Guadalquivir. Fue muestreado durante el otoño de los años 2000 y 2001 (en 1999 la zona estaba completamente inundada), a unos 20 m del cauce, en su margen derecha, en una zona donde también se habían aplicado enmiendas.

10) **PARCELA CON LODOS** (37° 14' 15" - 6° 15' 35,5"). Tras el accidente minero, la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía dejó diversas parcelas, amuralladas en su mayoría, de las que no se retiró el lodo (para el estudio de su evolución posterior). En una de ellas, situada en el Vado del Quema (margen izquierda), que inicialmente fue sólo vallada, se tomaron muestras de grama durante el otoño de 1999. Posteriormente, esta parcela fue eliminada, por lo que no se pudo continuar el muestreo. Los datos correspondientes han sido utilizados ocasionalmente, a efectos comparativos.

Excepto el punto situado en la Rivera de Huelva, todos estuvieron situados en la cuenca del Guadiamar. El haber seleccionado un punto fuera de esta cuenca, se debió a que en la zona de referencia establecida en la cuenca, Gerena, se detectó una apreciable contaminación residual (reflejado especialmente por la vegetación) en las proximidades del cauce del río. Esta contaminación residual debe ser consecuencia de antiguas actividades mineras, aguas arriba de la mina de



Aznalcóllar (por ejemplo, procedente de las antiguas minas del Castillo de las Guardas y zonas circundantes).

Lógicamente, esta contaminación residual afecta a la vegetación más cercana al cauce del río, vía de transporte de los elementos contaminantes; el establecimiento de un punto de referencia dentro de la propia cuenca (también establecido para la grama, punto SO) requiere alejarse suficientemente del cauce.

En resumen, durante el primer año (1999) se muestrearon los puntos de Gerena (referencia), Soverbina (referencia), Las Doblas, Aznalcázar, Vado del Quema y parcela con lodos (seis en total). En el segundo año (2000), se volvieron a muestrear estos mismos puntos, excepto el Vado del Quema y la parcela con lodos, y se añadieron los de Soverbina sobre suelos afectados (Soverbina-Lodos) y finca la Tiesa, ya en las cercanías de las Marismas del Guadalquivir (siete en total). El muestreo más completo correspondió al tercer año (2001), con tres puntos de referencia (Gerena, Soverbina y Rivera de Huelva) y seis afectados (Soverbina, Las Doblas, Lagares, Aznalcázar, Vado del Quema y La Tiesa).

### **5.3.2. Descripción del muestreo**

El procedimiento seguido fue el mismo en todos los puntos de muestreo; en cada uno de ellos se tomaron tres lotes de muestras de grama, separadas entre sí 30 m como mínimo. En cada caso se recogió suficiente biomasa para su análisis, con la ayuda de una azada. Paralelamente, se tomó la muestra de suelo correspondiente a cada planta (0 - 20 cm). Esto hizo un total de tres muestras de planta y otras tres de suelo por cada punto de muestreo. Los muestreos se realizaron en otoño, en los meses de octubre (1999), octubre (2000) y principios de diciembre (2001).

Una vez en el laboratorio las muestras vegetales fueron sometidas a un proceso de descontaminación mediante lavado, secado posterior y molienda. En el caso de los dos primeros muestreos, sólo se procesó la parte aérea verde, mientras que se descartó la seca. En el tercer muestreo se procesaron las partes aéreas verde y seca, para su análisis por separado (ver analíticas en el capítulo 4). También se analizó el sistema radical de algunas muestras aisladas.

El proceso de descontaminación por lavado (ver capítulo 4) se aplicó a una porción de cada muestra, moliéndose la porción restante sin lavar, para ser

analizada tal como sería ingerida por los herbívoros. Los resultados de los análisis de estas muestras sin descontaminar se presentan por separado en el apartado 5.6.

Para la estima de la biomasa se utilizó un cuadrado de 25 x 25 cm; este cuadrado se lanzó al azar en cada uno de los puntos de muestreo, tomándose toda la vegetación presente en ese recuadro. Una vez en el laboratorio, se separó la grama de otras especies, y una vez seca, se pesó la muestra.

## 5.4. VARIABILIDAD ESPACIAL DEL SISTEMA SUELO-PLANTA

### 5.4.1. Suelos: características generales y nivel de contaminación

#### 5.4.1.1. Características generales

A continuación se presentan las características generales de los suelos en los diferentes puntos de estudio, tomados en el otoño del año 2001:

#### *Textura*

En general, los suelos estudiados son de textura franca o franco-arenosa (exceptuando los del punto LA y SO-L) circunstancia que, comparativamente, los capacita en menor medida para la retención de elementos traza. De ahí el interés que tiene la adición de enmendantes en los suelos afectados por el vertido, adición que ya se había efectuado cuando se realizó el muestreo que presentamos en este trabajo.

**Tabla 5.1.** Textura de los suelos de los distintos puntos de muestreo. Valores medios de tres repeticiones por profundidad, sobre suelo seco.

Punto	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	Textura
GE	87,8	7,4	4,80	Arena Franca
SO	24,2	46,8	29,0	Franco
RHU	61,3	25,6	13,1	Franco arenoso
DO	22,8	47,5	29,8	Franco
LA	26,5	54,5	19,0	Franco limoso
AZ	63,3	22,7	14,0	Franco arenoso
QU	35,7	33,7	26,6	Franco arenoso
TI	27,9	46,8	25,3	Franco
SO-L	38,9	31,1	30,0	Franco arcilloso

### *pH y carbonatos*

El pH de los suelos estudiados estuvo comprendido entre 6,9 (punto SO-L) y 8,3 (puntos no afectados, RHU y SO) (Tabla 5.2). Excepto el punto SO-L, se trata de suelos neutros (hasta pH 7,5) y alcalinos (pH 7,6–8,5; JE-MP, 1992). Esta diferencia de pH, del orden de 7,5 en los afectados y 8,2 en los no afectados, pudo ser debida a oxidaciones parciales de pirita en micronichos de los suelos que fueron afectados por el vertido, donde todavía existe lodo residual. De hecho, siguen apareciendo periódicamente, formaciones blanquecinas de sulfatos en la zona afectada, sulfatos generados en proceso de oxidación de sulfuros descrito por Alastuey *et al.*, (1999).

Durante la toma de muestras ya había comenzado la aplicación de enmiendas (orgánicas y calcáreas; CMA, 2001). Sin embargo, los valores más altos de  $\text{CaCO}_3$  no coincidieron, en general, con los valores más altos de pH, lo que parece corroborar la hipótesis de que otros factores diferentes del carácter calcáreo de los suelos pudieron influir sobre el pH de los mismos, entre los que podría citarse la oxidación parcial de la pirita comentada anteriormente.

**Tabla 5.2.** pH, contenido en  $\text{CaCO}_3$  y concentración de nutrientes disponible en los suelos estudiados (valores medios sobre suelo seco; n = 3).

Punto	pH	$\text{CaCO}_3$ (%)	N (%)	P ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	K ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
GE	$8,1 \pm 0,2$	$1,6 \pm 1,5$	$0,09 \pm 0,03$	$4,0 \pm 0,8$	$49 \pm 11$
SO	$8,3 \pm 0,1$	$20 \pm 1,3$	$0,10 \pm 0,03$	$15 \pm 7,6$	$336 \pm 97$
RHU	$8,3 \pm 0,1$	$2,5 \pm 1,0$	$0,10 \pm 0,02$	$16 \pm 2,9$	$121 \pm 9$
DO	$7,5 \pm 0,3$	$12 \pm 0,4$	$0,10 \pm 0,006$	$9,7 \pm 3,2$	$159 \pm 18$
LA	$8,1 \pm 0,1$	$7,4 \pm 0,7$	$0,12 \pm 0,003$	$5,7 \pm 0,5$	$241 \pm 3$
AZ	$8,0 \pm 0,1$	$7,1 \pm 0,4$	$0,08 \pm 0,001$	$14 \pm 1,2$	$101 \pm 4$
QU	$7,2 \pm 0,4$	$12 \pm 4,7$	$0,14 \pm 0,02$	$7,6 \pm 1,5$	$156 \pm 52$
TI	$7,9 \pm 0,2$	$4,9 \pm 1,8$	$0,17 \pm 0,01$	$14 \pm 3,5$	$239 \pm 24$
SO-L	$6,9 \pm 0,1$	$2,9 \pm 2,2$	$0,06 \pm 0,01$	$4,4 \pm 0,9$	$90 \pm 37$

### *Contenido en nutrientes*

Según los criterios que recoge la JE-MP (1992), sólo los contenidos de N del suelo de los puntos LA, QU y TI podrían considerarse normales (intervalo normal 0,11 - 0,20 %); el resto de los suelos presentarían un contenido bajo según esta clasificación.

Atendiendo a las características texturales, las concentraciones de P fueron normales en los puntos RHU, SO, AZ y TI (intervalo de 13 - 18 mg kg<sup>-1</sup> para textura franca; JE-MP, 1992). En el resto de puntos el contenido en P fue bajo, destacando GE y SO-L cuyos contenidos pueden considerarse muy bajos (Tabla 5.2; JE-MP, 1992).

Para el K se considera normal un intervalo de 160 - 235 mg kg<sup>-1</sup> en suelos francos (JE-MP, 1992). En función de este criterio los puntos SO, DO, LA, QU, y TI, tendrían contenidos de K de adecuados a altos, mientras que GE y SO-L presentaron contenidos bajos (Tabla 5.2).

En conjunto, los resultados obtenidos parecen mostrar que el vertido no influyó sobre las concentraciones de estos tres nutrientes en el suelo, no apreciándose diferencias de fertilidad entre los suelos afectados y los no afectados.

#### 5.4.1.2. Nivel de contaminación: concentraciones totales

A pesar de las labores de limpieza, los suelos afectados presentan todavía una notable contaminación residual, debido fundamentalmente al enterramiento de lodo que causó la maquinaria utilizada para la limpieza, aspecto documentado en un capítulo anterior (Capítulo 1).

En el presente apartado se estudia la variabilidad espacial de los datos de S y elementos traza correspondientes al último año de estudio (2001), en el que la grama fue muestreada en un número de puntos mayor que el de los años anteriores.

### *Concentración de azufre*

Teniendo en cuenta que el azufre fue uno de los componentes más abundantes del vertido pirítico (alrededor de un 40 %, Alastuey *et al.*, 1999), su

concentración en los suelos afectados puede servir como parámetro indicador de su nivel de contaminación.

Los suelos que no fueron afectados por el vertido (GE, SO, RHU) presentaron niveles de S mucho más bajos que los suelos afectados (LA a SO-L, Tabla 5.3). Entre los suelos no afectados, existe una concentración de S algo más elevada en Gerena (Tabla 5.3). Este hecho muestra la naturaleza pirítica del nivel de contaminación residual detectado en Gerena al derivarse de antiguas actividades mineras, más al norte, relacionadas con este mineral.

Entre los suelos afectados por el vertido también se detectaron distintos niveles de contaminación, reflejados por las concentraciones de S, obteniéndose diferencias significativas respecto a los suelos no afectados.

**Tabla 5.3.** Concentración de S y de los elementos traza As, Pb y Zn extraídos con *aqua regia*. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 3$ ). Para cada elemento, valores seguidos por una misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Zonas	Punto	S (mg kg <sup>-1</sup> )	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
"No contaminadas"	GE	536 $\pm$ 327	12,4 $\pm$ 1,45	8,90 $\pm$ 2,90	47,3 $\pm$ 9,10
	SO	290 $\pm$ 39,5	6,30 $\pm$ 1,23	11,9 $\pm$ 4,31	37,8 $\pm$ 4,60
	RHU	217 $\pm$ 42,5	8,20 $\pm$ 0,36	9,30 $\pm$ 1,15	56,8 $\pm$ 4,70
Media global ( $n = 9$ )		<b>348 <math>\pm</math> 107 a</b>	<b>8,95 <math>\pm</math> 1,06 a</b>	<b>10,0 <math>\pm</math> 1,61 a</b>	<b>47,6 <math>\pm</math> 4,25 a</b>
"Recuperadas"	LA	1670 $\pm$ 355	43,4 $\pm$ 9,20	74,2 $\pm$ 16,9	135 $\pm$ 16,0
	AZ	3930 $\pm$ 1585	110 $\pm$ 32,9	186 $\pm$ 38,2	497 $\pm$ 33,2
	TI	4443 $\pm$ 2170	130 $\pm$ 37,3	224 $\pm$ 66,0	673 $\pm$ 87,8
Media global ( $n = 9$ )		<b>3348 <math>\pm</math> 891 ab</b>	<b>94,7 <math>\pm</math> 19,6 ab</b>	<b>161 <math>\pm</math> 31,8 ab</b>	<b>435 <math>\pm</math> 83,8 b</b>
"Difícil acceso"	DO	7690 $\pm$ 3356	212 $\pm$ 99,1	217 $\pm$ 85,4	781 $\pm$ 208
	QU	18250 $\pm$ 11854	370 $\pm$ 208	648 $\pm$ 368	659 $\pm$ 75,1
	SO-L	7068 $\pm$ 3895	157 $\pm$ 17,3	234 $\pm$ 18,7	447 $\pm$ 182
Media global ( $n = 9$ )		<b>11003 <math>\pm</math> 4148 b</b>	<b>246 <math>\pm</math> 73,8 b</b>	<b>366 <math>\pm</math> 130 b</b>	<b>629 <math>\pm</math> 96,2 b</b>
Conc. Normal <sup>a</sup>		30 - 1600	0,1 - 40	2 - 300	1 - 900
Conc. Tóxica <sup>b</sup>			20	100 - 400	70 - 400

<sup>a</sup> Bowen (1979). Concentración normal en suelos

<sup>b</sup> Ross (1994); Singh y Steinnes (1994). Concentración tóxica para las plantas

Agrupando los puntos atendiendo al contenido de S, coincide, en cierto modo, con el estado de intervención de los suelos. Los puntos de LA y AZ, (y la TI

en menor medida) habían sido limpiados y enmendados adecuadamente, habiéndose establecido en ellos un denso tapiz vegetal, especialmente en los dos primeros. Los puntos restantes, DO, QU y SO-L, tuvieron un difícil acceso para la limpieza, por lo que su limpieza y corrección resultó escasa o nula. Se trata de los puntos que presentaron un pH más bajo (Tabla 5.2) fruto posiblemente de la oxidación de los sulfuros de los lodos ante la ausencia de enmiendas correctoras.

Así se pueden distinguir 3 grados de contaminación: la concentración de S de los puntos "difícil acceso" ( $> 7000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) fue mayor, significativamente, que las de los suelos de referencia. La concentración en los puntos "recuperados" ( $3000\text{-}5000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) que fue mayor que en los suelos "no contaminados", aunque en conjunto la diferencia no fue significativa (Tabla 5.3).

En general, las concentraciones de S de los suelos afectados estuvieron por encima del rango  $30 - 1600 \text{ mg kg}^{-1}$  referido por Bowen (1979) para suelos normales (más de 11 veces en el punto QU). También reflejan la irregularidad que caracteriza a la contaminación residual con lodos de la zona afectada, donde no se registraron diferencias significativas, en ocasiones, debido a la dispersión de los resultados.

#### *Concentración de Fe y elementos traza*

Los suelos afectados experimentaron un notable aumento en su concentración de As, respecto a los suelos de referencia, aunque las diferencias no resultaran siempre significativas (Tabla 5.3), debido a la fuerte dispersión obtenida para este elemento (en los suelos limpiados y enmendados de LA, AZ y TI). Este hecho vuelve a reflejar la irregular distribución que caracteriza a la contaminación residual de la zona, aunque si comparamos por pares las concentraciones de este elemento (mediante *t*-Student) resultan significativamente mayores respecto a los puntos de referencia. Los suelos más contaminados estudiados (DO, QU y SO-L) presentaron concentraciones estadísticamente mayores a los de referencia, con valores medios entorno a  $250 \text{ mg kg}^{-1}$  de As.

Estos resultados son consecuencia de que el As, junto con el Pb y el Zn, fue uno de los elementos más abundantes del vertido (hasta  $4000 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Cabrera *et al.*, 1999) lo que motivó una considerable alarma social, por su reconocida toxicidad para animales y plantas. Respecto a los suelos normales de la zona, la

concentración de As de los lodos fue hasta 150 veces más alta (Cabrera *et al.*, 1999).

Los mayores aumentos de As se registraron en los puntos QU y DO, seguidos por SO-L y TI, en este orden, correspondiendo a LA el menor aumento. Comparando con el suelo de referencia SO (en la cuenca del Guadamar), la concentración de As aumentó 59 veces en QU, 34 veces en DO, y 25 y 21 veces en SO-L y TI respectivamente. En LA sólo aumentó 7 veces. Estos resultados concuerdan en gran medida con la agrupación de suelos realizada en función de las concentraciones de S (QU sería el punto más contaminado y LA el menos).

Son incrementos bastante mayores que los obtenidos por otros autores (por ejemplo: Cabrera *et al.*, 1999; López-Pamo *et al.*, 1999), que refieren aumentos del orden de 3 ó 4 veces (relación As en suelos afectados/As en suelos no afectados). Las diferencias con nuestros resultados se pueden explicar por varias razones : a) el valor de fondo de As, y de otros elementos, utilizado por los autores mencionados fue mayor que la concentración de As de los suelos de referencia seleccionados para este estudio. b) Se utilizaron distintas metodologías analíticas (contenidos *quasi* totales en nuestro caso; contenidos totales en el de los autores mencionados), y c) que nuestros resultados procedían de un número de muestras mucho menor que las analizadas en los extensos estudios de suelo de Cabrera *et al.* (1999), López-Pamo *et al.* (1999) y Galán *et al.*, 2002, y sobre todo, d) que en los estudios de Cabrera *et al.* (1999), López-Pamo *et al.* (1999) antes de la limpieza de suelos, se retiraba la costra de lodos para realizar el muestreo, no existiendo entonces concentraciones tan altas de lodos.

Para los fines de nuestro trabajo, el hecho más importante es que las concentraciones de As de todos los suelos afectados, incluido LA, estuvieron muy por encima de la concentración de 20 mg kg<sup>-1</sup>, considerada tóxica para las plantas (Tabla 5.3)

La mayor concentración de Pb volvió a corresponder DO, QU y SO-L, con diferencias significativas respecto a los suelos de referencia. Las diferencias no resultaron significativas para suelos afectados y enmendados (LA, AZ y TI), debido a la irregular distribución de la contaminación, según se ha indicado anteriormente (Tabla 5.3), aunque comparando por pares (*t*-Student), esta concentración media también resultó mayor significativamente respecto a los puntos de referencia.

En el caso del Zn, los mayores aumentos correspondieron a los suelos afectados de DO, TI y QU, por este orden, con diferencias que resultaron

significativas respecto a los suelos de referencia (Tabla 5.3). Como en el caso del As, los incrementos de Pb y Zn, respecto a los suelos de referencia, fueron mayores que los detectados en los trabajos mencionados anteriormente (Cabrera *et al.*, 1999; López-Pamo *et al.*, 1999), por las razones ya indicadas.

Las concentraciones de Pb y Zn de los suelos afectados estuvieron comprendidas dentro de los intervalos considerados normales para suelos, excepto la de Pb en el punto QU, particularmente alta. Se trata de rangos muy amplios (Tabla 5.3), que comprenden incluso el rango de toxicidad para las plantas, por lo que sólo aportan una información meramente orientativa.

**Tabla 5.4.** Concentración de Fe y elementos traza Cu, Mn y Ni extraídos con *aqua regia* en los suelos estudiados. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 3$ ). Para cada elemento, valores seguidos por una misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Zonas	Punto	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Ni (mg kg <sup>-1</sup> )
"No contaminadas"	GE	19967 $\pm$ 2967	542 $\pm$ 66,0	13,0 $\pm$ 2,4	11,8 $\pm$ 1,40
	SO	18167 $\pm$ 2636	354 $\pm$ 56,4	15,0 $\pm$ 0,3	12,4 $\pm$ 1,70
	RHU	29967 $\pm$ 1648	598 $\pm$ 68,0	22,4 $\pm$ 3,9	20,5 $\pm$ 1,33
Media global ( $n = 9$ )		<b>22700 <math>\pm</math> 2215 a</b>	<b>497 <math>\pm</math> 48,6 a</b>	<b>16,8 <math>\pm</math> 1,95 a</b>	<b>14,9 <math>\pm</math> 1,58 a</b>
"Recuperadas"	LA	25333 $\pm$ 2338	463 $\pm$ 16,5	41,5 $\pm$ 5,4	18,5 $\pm$ 1,55
	AZ	25867 $\pm$ 1417	479 $\pm$ 5,2	126 $\pm$ 8,5	14,8 $\pm$ 0,25
	TI	34300 $\pm$ 1124	626 $\pm$ 43,6	219 $\pm$ 4,91	20,7 $\pm$ 0,43
Media global ( $n = 9$ )		<b>28500 <math>\pm</math> 1725 a</b>	<b>523 <math>\pm</math> 29,2 a</b>	<b>129 <math>\pm</math> 25,8 b</b>	<b>18,0 <math>\pm</math> 1,0 a</b>
"Difícil acceso"	DO	34867 $\pm$ 5388	654 $\pm$ 109	195 $\pm$ 36,9	19,9 $\pm$ 0,90
	QU	47000 $\pm$ 13785	435 $\pm$ 28,0	205 $\pm$ 31,2	23,2 $\pm$ 5,10
	SO-L	47717 $\pm$ 1947	737 $\pm$ 239	140 $\pm$ 28,7	32,5 $\pm$ 3,11
Media global ( $n = 9$ )		<b>43194 <math>\pm</math> 4787 b</b>	<b>609 <math>\pm</math> 88,5 a</b>	<b>180 <math>\pm</math> 19,1 b</b>	<b>25,2 <math>\pm</math> 2,65 b</b>
Conc. Normal <sup>a</sup>		2000 – 550000	20 – 10000	2 – 25	2 – 750
Conc. Tóxica <sup>b</sup>			1500-3000	60 - 125	100

<sup>a</sup> Bowen (1979). Concentración normal en suelos

<sup>b</sup> Ross (1994); Singh y Steinnes (1994). Concentración tóxica para las plantas



Los suelos afectados alcanzaron concentraciones de Cu muy por encima de los valores considerados normales para suelos, con diferencias significativas respecto a los de referencia tanto en los "recuperados" como en los de "difícil acceso", llegando a superar el intervalo considerado tóxico para las plantas, excepto en el caso de LA (punto menos contaminado de todos los estudiados; Tabla 5.4); este hecho es consecuencia de las concentraciones altas de este elemento en el vertido (hasta 2000 mg kg<sup>-1</sup>, Cabrera *et al.*, 1999).

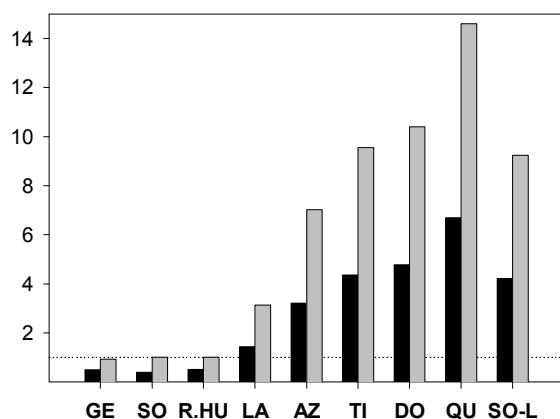
También en este caso se registraron incrementos, respecto a los suelos de referencia, mayores que los obtenidos por Cabrera *et al.*, (1999) y López-Pamo *et al.*, (1999) por las mismas razones citadas anteriormente.

El enriquecimiento de Fe, Mn y Ni en los suelos afectados resultó comparativamente bajo respecto al resto de elementos estudiados. Este incremento en el vertido fue prácticamente nulo para Mn y Ni (Cabrera *et al.*, 1999; López-Pamo *et al.*, 1999), y muy bajo para el Fe (López-Pamo *et al.*, 1999; Galán *et al.*, 2002).

En el caso del Guadiamar, los incrementos registrados en los suelos afectados, respecto a los suelos de referencia, han resultado en ocasiones algo más altos, especialmente en el caso de Fe y Ni, con diferencias significativas entre los suelos de referencia y los de "difícil acceso". Pero en general, las concentraciones de los tres elementos fueron del orden de las existentes en suelos normales, y mucho más bajas que las consideradas fitotóxicas en el caso de Mn y Ni (Tabla 5.4).

#### *Índice de carga contaminante*

Este índice (referido con frecuencia como PLI, del inglés *Pollution Load Index*; Thomlinson *et al.*, 1980) estima de manera sencilla el nivel de contaminación de un suelo por elementos traza. Básicamente, según se describió en el apartado de Métodos (apartado 4.3), consiste en comparar los niveles de estos elementos en suelos contaminados con los considerados normales en suelos similares no contaminados (valores de fondo o de referencia). Valores de PLI cercanos a 1 indican una carga contaminante parecida al nivel de fondo (baja o nula contaminación), mientras que valores de PLI >1 indican contaminación, tanto mayor cuanto mayor sea este número (Cabrera *et al.*, 1999).



**Figura 5.2.** Valores PLI para los puntos de estudio, considerando como valores de fondo de elementos traza: los facilitados por Cabrera *et al.*, (1999) para suelos no contaminados de la cuenca del río Guadiana (barras negras) y los obtenidos para los suelos de referencia SO y RHU (valores medios; barras grises). La línea punteada  $PLI = 1$  indica el nivel de contaminación nula.

Para el cálculo de los valores de PLI sólo se han considerado los elementos As, Cu, Ni, Pb y Zn. Hierro y Mn no son elementos potencialmente tóxicos. Como valores de fondo (del inglés "background"), se utilizaron por una parte, los valores obtenidos por Cabrera *et al.*, (1999) para suelos no afectados de la zona (criterio A) y por otra los valores medios de los suelos de referencia SO y RHU (criterio B; no se consideró GE, debido a su contaminación residual). Se han incluido los valores de fondo de Cabrera *et al.*, (1999), por ser mayores que los de los suelos de los puntos SO y RHU, según se indicó anteriormente. De esta forma, se obtiene una visión más amplia de la carga contaminante que presentan los suelos afectados.

Como era de esperar, los valores de PLI son más altos cuando se utilizan los suelos de los puntos SO y RHU que los valores medios de toda la Cuenca (Fig. 5.2.). Existe un punto, QU, con un nivel de contaminación algo mayor que el de los restantes puntos (presentó la mayor concentración de S, Tabla 5.3), seguido por el bloque de puntos SO-L, TI y DO, con valores de PLI entre 4 y 5 según el criterio A (entre 9 y 10 según el criterio B), Aznalcázar, con un valor de PLI próximo a 3 (7 según el criterio B) y por fin el punto LA, con un nivel de contaminación razonablemente bajo (PLI próximo a 1 según el criterio A).

#### 5.4.1.3. Nivel de contaminación: concentraciones disponibles

Del contenido total de un elemento en el suelo, sólo una pequeña fracción está disponible para la planta, fracción constituida fundamentalmente por la cantidad del elemento en solución y la fracción cambiante. Para simular la acción de las raíces de la planta se utilizan extractantes como EDTA (Mortvedt *et al.*, 1991, ver métodos apartado 4.2.1).

El conocimiento de la disponibilidad para la planta de un determinado elemento mineral en el suelo es tanto o más importante que el conocimiento de su contenido total, puesto que ambos valores no suelen estar relacionados. Contenidos totales altos de un elemento no siempre implican disponibilidad alta del mismo elemento, al estar ésta relacionada con numerosas variables edáficas, muchas de ellas con gran variabilidad espacio-temporal; por ejemplo, temperatura y humedad del suelo, actividad de la microfauna y otras (Greger, 1999).

#### *Concentración de Fe y elementos traza*

Las concentraciones de elementos traza disponibles son mayores en los suelos afectados que en los suelos de referencia, aunque casi nunca se obtuvieron diferencias significativas (Tablas 5.5 y 5.6) debido a la fuerte dispersión de los resultados, derivada de la heterogeneidad que caracteriza a la contaminación residual del área afectada.

Se han observado algunas diferencias en el nivel de contaminación de los suelos afectados (fracción disponible), respecto a los resultados obtenidos para los contenidos totales. Por ejemplo, las mayores concentraciones de elementos disponibles no siempre correspondieron al punto QU, salvo en el caso del As, que sí alcanza el valor más alto (junto con AZ). Ambas concentraciones de As, del orden de  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ , resultaron mayores, significativamente, que las de los suelos de referencia (Tabla 5.5).

Para determinados elementos, como Cd, y especialmente Pb, el punto más contaminado es DO, con diferencias significativas respecto a los suelos de referencia (Tabla 5.5). La movilidad del Pb, junto a la del As, Tl e incluso Cu, fue mucho baja en los suelos afectados que la de elementos como Cd y Zn, según han demostrado Vidal *et al.* (1999).

**Tabla 5.5.** Concentración de los elementos traza As, Cd, Pb y Zn extraídos con EDTA en los suelos estudiados. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco (N = 3). Para cada elemento, se indican los valores F y p del ANOVA; valores seguidos por una misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Punto	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
GE	0,015 $\pm$ 0,001 <b>a</b>	6,04 $\pm$ 0,45 <b>a</b>	0,60 $\pm$ 0,35 <b>abc</b>	5,21 $\pm$ 1,32 <b>ab</b>
SO	0,009 $\pm$ 0,001 <b>a</b>	2,97 $\pm$ 0,20 <b>a</b>	0,07 $\pm$ 0,04 <b>a</b>	2,00 $\pm$ 0,20 <b>a</b>
RHU	0,005 $\pm$ 0,003 <b>a</b>	5,16 $\pm$ 0,52 <b>a</b>	0,13 $\pm$ 0,05 <b>ab</b>	3,21 $\pm$ 0,20 <b>a</b>
LA	0,13 $\pm$ 0,02 <b>ab</b>	10,2 $\pm$ 0,45 <b>a</b>	0,65 $\pm$ 0,50 <b>abc</b>	19,1 $\pm$ 3,32 <b>ab</b>
AZ	0,56 $\pm$ 0,11 <b>b</b>	21,8 $\pm$ 1,03 <b>ab</b>	0,76 $\pm$ 0,03 <b>abc</b>	70,0 $\pm$ 9,65 <b>abc</b>
TI	0,29 $\pm$ 0,09 <b>ab</b>	22,2 $\pm$ 2,05 <b>ab</b>	1,19 $\pm$ 0,16 <b>bc</b>	102 $\pm$ 25,2 <b>bc</b>
DO	0,29 $\pm$ 0,09 <b>ab</b>	38,5 $\pm$ 14,3 <b>b</b>	1,38 $\pm$ 0,27 <b>c</b>	128 $\pm$ 33,7 <b>c</b>
QU	0,59 $\pm$ 0,25 <b>b</b>	25,8 $\pm$ 5,10 <b>ab</b>	1,20 $\pm$ 0,20 <b>bc</b>	130 $\pm$ 18,5 <b>c</b>
SO-L	0,27 $\pm$ 0,07 <b>ab</b>	6,60 $\pm$ 2,30 <b>a</b>	0,66 $\pm$ 0,43 <b>abc</b>	66,1 $\pm$ 35,8 <b>abc</b>
F	4,556	5,46	2,763	7,97
p	0,004	0,001	0,035	0,000

También cabe destacar que en el caso del punto LA se observó un claro paralelismo entre contenidos totales y disponibles, en el sentido de que ambas fracciones reflejaron la menor contaminación existente en este punto, respecto a los restantes, a pesar de que las diferencias de concentración no siempre resultaran significativas. Tras LA, el punto menos contaminado fue SO-L, aspecto que no reflejó el análisis de elementos totales.

Esta circunstancia corrobora el hecho de que no siempre existe relación entre contenidos totales y disponibles. A pesar de tener pH ácido, los suelos de SO-L presentaron contenidos comparativamente bajos de Cd, Pb y Zn, respecto a puntos como TI, DO y QU. Pequeñas diferencias texturales (el suelo de SO-L era algo más pobre que los restantes suelos afectados, al estar situado en una zona pedregosa del cauce) pueden haber influido en estas diferencias de disponibilidad.

De los restantes elementos analizados, sólo el Cu (cuyos niveles pueden haber sido sobrestimados mediante la extracción con EDTA) resultó significativamente más alto en los suelos afectados que en los de referencia, especialmente en los puntos TI, DO y QU. La concentración en el punto LA fue de nuevo muy baja (Tabla 5.6).

Las concentraciones de Fe y Ni fueron bastante similares en todos los suelos; los valores de ANOVA no son significativos ( $p \geq 0,05$ ) y por tanto no existen diferencias según el factor "punto de muestreo" (Tabla 5.7). Entre los suelos de referencia, destacan los valores altos de Fe, Mn y Ni registrados en el punto RHU; en particular el Mn, siendo significativo el ANOVA (Tabla 5.7). Puede que estas diferencias se deban a diferencias mineralógicas entre los suelos, aspecto no contemplado en este estudio.

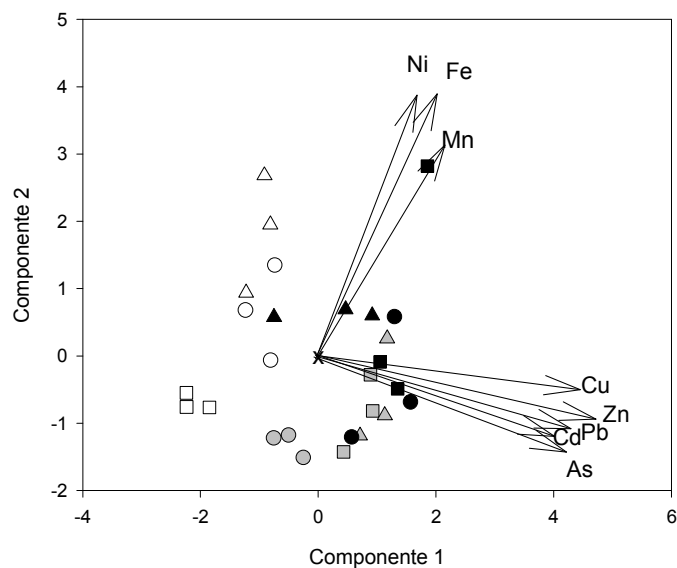
**Tabla 5.6.** Concentración de los elementos Cu, Fe, Mn y Ni extraídos con EDTA en los suelos estudiados. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 3$ ). Para cada elemento, se indican los valores F y p del ANOVA; valores seguidos por una misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Punto	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Ni (mg kg <sup>-1</sup> )
GE	99,0 $\pm$ 11,4 <b>a</b>	85,8 $\pm$ 2,35 <b>bc</b>	4,41 $\pm$ 1,30 <b>a</b>	0,42 $\pm$ 0,11 <b>a</b>
SO	33,1 $\pm$ 0,86 <b>a</b>	35,4 $\pm$ 4,90 <b>a</b>	3,48 $\pm$ 0,57 <b>a</b>	0,36 $\pm$ 0,07 <b>a</b>
RHU	143 $\pm$ 26,4 <b>a</b>	108 $\pm$ 19,0 <b>c</b>	6,12 $\pm$ 1,00 <b>a</b>	0,68 $\pm$ 0,12 <b>a</b>
LA	36,2 $\pm$ 0,65 <b>a</b>	49,3 $\pm$ 1,85 <b>ab</b>	7,77 $\pm$ 0,92 <b>a</b>	0,29 $\pm$ 0,01 <b>a</b>
AZ	74,4 $\pm$ 5,88 <b>a</b>	71,7 $\pm$ 5,33 <b>abc</b>	28,5 $\pm$ 3,90 <b>b</b>	0,37 $\pm$ 0,09 <b>a</b>
TI	75,3 $\pm$ 9,90 <b>a</b>	77,8 $\pm$ 6,60 <b>abc</b>	58,7 $\pm$ 7,82 <b>c</b>	0,44 $\pm$ 0,12 <b>a</b>
DO	141 $\pm$ 77,0 <b>a</b>	78,0 $\pm$ 10,1 <b>abc</b>	46,7 $\pm$ 6,90 <b>c</b>	0,44 $\pm$ 0,07 <b>a</b>
QU	831 $\pm$ 745 <b>a</b>	82,5 $\pm$ 10,3 <b>abc</b>	49,8 $\pm$ 2,88 <b>c</b>	0,83 $\pm$ 0,23 <b>a</b>
SO-L	162 $\pm$ 71,2 <b>a</b>	68,9 $\pm$ 15,9 <b>abc</b>	20,5 $\pm$ 4,80 <b>ab</b>	0,76 $\pm$ 0,20 <b>a</b>
F	2,188	4,287	35,26	2,194
p	0,080	0,005	0,000	0,079

#### *Tendencias de variación*

Se ha realizado el análisis de las componentes principales (ACP) de las 27 muestras de suelo y 8 variables edáficas.

Los dos primeros ejes del análisis explican el 80 % de la varianza total. El 57% corresponde a la componente 1, determinada por los elementos As, Cd, Cu, Pb y Zn (potencialmente tóxicos y muy abundantes en el vertido). El Fe junto con el Mn y Ni explicarían el 23 % de la varianza asociada al eje 2 (Fig. 5.3).



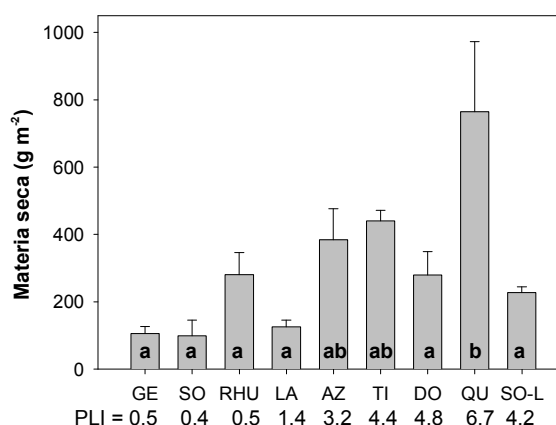
**Figura 5.3.** Análisis de las componentes principales de las concentraciones disponibles en suelos de los 8 elementos traza estudiados. Los símbolos de cada uno de los puntos se corresponden con: ○ GE, □ SO, △ RHU, ● LA, ■ AZ, ▲ TI, ● DO, ■ QU y ▲ SO-L. Los vectores indican los coeficientes (multiplicados por 5, por claridad) de los elementos traza.

El gradiente de concentración determinado por ambas componentes tiende a separar 5 grupos de muestras de suelo. Situado a la izquierda de la gráfica, con valores negativos para las 2 componentes, aparece el punto SO (sería el suelo menos contaminado de todos los estudiados). Los restantes suelos de referencia están separados por la componente 2 (en su parte positiva), especialmente RHU, cuyas concentraciones de Fe, Mn y Ni resultaron comparativamente altas (Tabla 5.6 y Fig. 5.3).

Situados en posición central, para las 2 componentes, se sitúan los puntos de GE, LA y SO-L, y algunas muestras de suelos de los puntos AZ, DO y TI (mostrando este hecho una vez más la heterogeneidad de la contaminación). Diferenciado sólo en el eje positivo de la componente 1 están la mayor parte de los puntos DO, AZ, TI y QU (Fig. 5.3). Por último diferenciado por ambas componentes en sus ejes positivos aparece una muestra del punto QU.

#### 5.4.2. Planta: variabilidad espacial de la biomasa

El crecimiento de las plantas en los suelos contaminados por elementos traza puede verse fuertemente inhibido (Lan *et al.*, 1998; Greger, 1999, Hagemeyer, 1999). Este grado de inhibición depende de la capacidad de tolerancia o resistencia, que posea cada especie en particular. La grama (*Cynodon dactylon*) parece soportar muy bien, en relación con otras especies, la presencia de metales pesados en el suelo, hasta el punto de haber sido recomendada para la “estabilización” de suelos contaminados (McLaughlin *et al.*, 2000).



**Figura 5.4.** Producción de biomasa en los 9 puntos de muestreo. Debajo de cada punto aparece el valor PLI, indicando su nivel de contaminación. Para cada punto letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La producción de biomasa de grama por unidad de superficie no parece afectada por el nivel de contaminación de los suelos, hasta el extremo de que la mayor cantidad de biomasa se midió en el suelo más contaminado (Fig. 5.4). La diferencia de QU fue significativa respecto al resto de puntos salvo AZ y TI (ver significación en Fig. 5.4).

Se puede inferir que el crecimiento de la planta debe estar influenciado por una serie de variables edafoclimáticas además de por la contaminación de elementos traza de los suelos. Los niveles de estos elementos alcanzados en los tejidos vegetales (aspecto que se presenta en los apartados siguientes) no parece que puedan haber resultado tóxicos para la planta.

#### **5.4.3. Planta: variabilidad espacial de la concentración de nutrientes y elementos traza**

Para el estudio de la concentración de elementos traza y estado nutricional de la grama, las muestras vegetales fueron agrupadas teniendo en cuenta el tipo de suelo en el que estaban creciendo, así se dispone de 3 grupos:

Las que crecen sobre suelo no afectado, suelo **NA**, que comprende las plantas de GE, SO y RHU. Las que crecen sobre suelo que (en teoría) ha sido limpiado y enmendado, suelo **AE**, que se corresponden con los puntos de LA, AZ y TI; y por último las que crecen sobre suelo **AL**, es decir, sobre zonas afectadas y cuya limpieza ha sido escasa o nula por su situación, y se corresponde con los puntos DO, QU y SO-L.

Hay que tener en cuenta que todos los datos presentados en este apartado corresponden a las concentraciones obtenidas en el último año de estudio (2001), tres años después del vertido minero.

##### 5.4.3.1. Concentración de nutrientes

La presencia de elementos traza en concentraciones superiores a los valores normales en el suelo, puede causar efectos negativos sobre la nutrición mineral de la planta. En la bibliografía se han descrito procesos antagónicos entre diversos nutrientes y elementos traza que afectan al proceso de nutrición de la planta (Markert, 1987; Barceló y Poschenrieder, 1990).

Existe una concentración menor de N en las plantas sobre suelos tipo AL, por tanto, se puede inferir que la presencia de elementos traza en los suelos del tipo AL puede afectar negativamente la absorción de N por la planta. Sin embargo, en las de suelo AE no se encuentran diferencias significativas, aunque sean ligeramente más bajas, situándose también alrededor del 2 % del peso de la planta. Posiblemente, la eficacia de las labores, no sólo de limpieza, sino también de aplicación de enmiendas pudo compensar el efecto negativo de la contaminación (Tabla 5.7). Hay que tener en cuenta que altas concentraciones de elementos traza en los suelos interfieren en la mineralización del nitrógeno (Liang y Tabati, 1977).

El P no presentó diferencias entre las gramas que crecen en los tres tipos de suelos; con el K sí se obtuvieron diferencias, tanto en las plantas de suelos AE y



AL, siendo las concentraciones más bajas que en NA, aunque estadísticamente significativas sólo sean en las de suelo AE.

La concentración de Ca de las plantas que crecen en los suelos tipo AE y AL, fueron mayores significativamente, que las procedentes del suelo tipo NA. Podría pensarse en un efecto positivo de las enmiendas calcáreas aplicadas, sin embargo, teniendo en cuenta que éstas no pudieron aplicarse en las de suelo tipo AL, por su inaccesibilidad, cabe pensar en una posible potenciación de la absorción y transporte, de Ca por parte de la planta, como mecanismo de defensa ante la situación de estrés creada por los elementos traza.

**Tabla 5.7** Concentración de nutrientes en tejidos vegetales de grama (2001), en función del tipo de suelo en el que crecen. Valores medios  $\pm$  error estándar (N=3). Para cada elemento, valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Elemento	Tipo suelo	Concentración (g 100g <sup>-1</sup> )	Elemento	Tipo suelo	Concentración (g 100g <sup>-1</sup> )
N	NA	1,84 $\pm$ 0,11 <b>b</b>	Ca	NA	0,43 $\pm$ 0,03 <b>a</b>
	AE	1,70 $\pm$ 0,70 <b>b</b>		AE	0,65 $\pm$ 0,06 <b>b</b>
	AL	1,26 $\pm$ 0,10 <b>a</b>		AL	0,67 $\pm$ 0,03 <b>b</b>
P	NA	0,18 $\pm$ 0,02 <b>a</b>	Mg	NA	0,17 $\pm$ 0,02 <b>a</b>
	AE	0,15 $\pm$ 0,01 <b>a</b>		AE	0,23 $\pm$ 0,01 <b>b</b>
	AL	0,16 $\pm$ 0,01 <b>a</b>		AL	0,21 $\pm$ 0,01 <b>ab</b>
K	NA	1,83 $\pm$ 0,12 <b>b</b>	S	NA	0,40 $\pm$ 0,01 <b>a</b>
	AE	1,24 $\pm$ 0,16 <b>a</b>		AE	0,58 $\pm$ 0,02 <b>b</b>
	AL	1,64 $\pm$ 0,10 <b>ab</b>		AL	0,57 $\pm$ 0,40 <b>b</b>

Tampoco puede atribuirse esta mayor concentración de Ca en la grama de los suelos afectados a una mayor presencia de Ca en estos suelos. Considerando por separado los suelos no afectados de SO (Ca Total 79 g kg<sup>-1</sup>), y los afectados LA (58 g kg<sup>-1</sup>) y DO (58 g kg<sup>-1</sup>), se comprueba que se obtienen mayores concentraciones de Ca en la planta en DO y LA (0,69%) que en SO (0,44%) a pesar de los valores obtenidos en el suelo.

La concentración de Mg fue mayor significativamente, en el caso de las plantas que crecen sobre suelo tipo AE (respecto al suelo de referencia). La concentración de Mg de los suelos del tipo AL, también fue mayor, aunque no de forma significativa (Tabla 5.7).

El S fue también significativamente mayor para las gramas de los suelos del tipo AE y AL. La explicación de estos resultados parece ser que, en el vertido, este elemento era muy abundante; de ahí que las mayores concentraciones obtenidas hayan sido en los puntos a los que llegó el vertido. Los valores obtenidos en los 3 tipos de suelos están dentro de los considerados normales en las plantas (0,1-1 %), no superando los valores máximos de 1%. A pesar de estar creciendo en suelos ricos en este elemento, no se han alcanzado concentraciones muy altas, con respecto a los valores dados en la bibliografía para plantas; este hecho puede ser debido a que, según Navarro y Navarro (1984), las gramíneas tienen poca cantidad de este nutriente, en relación a otras plantas.

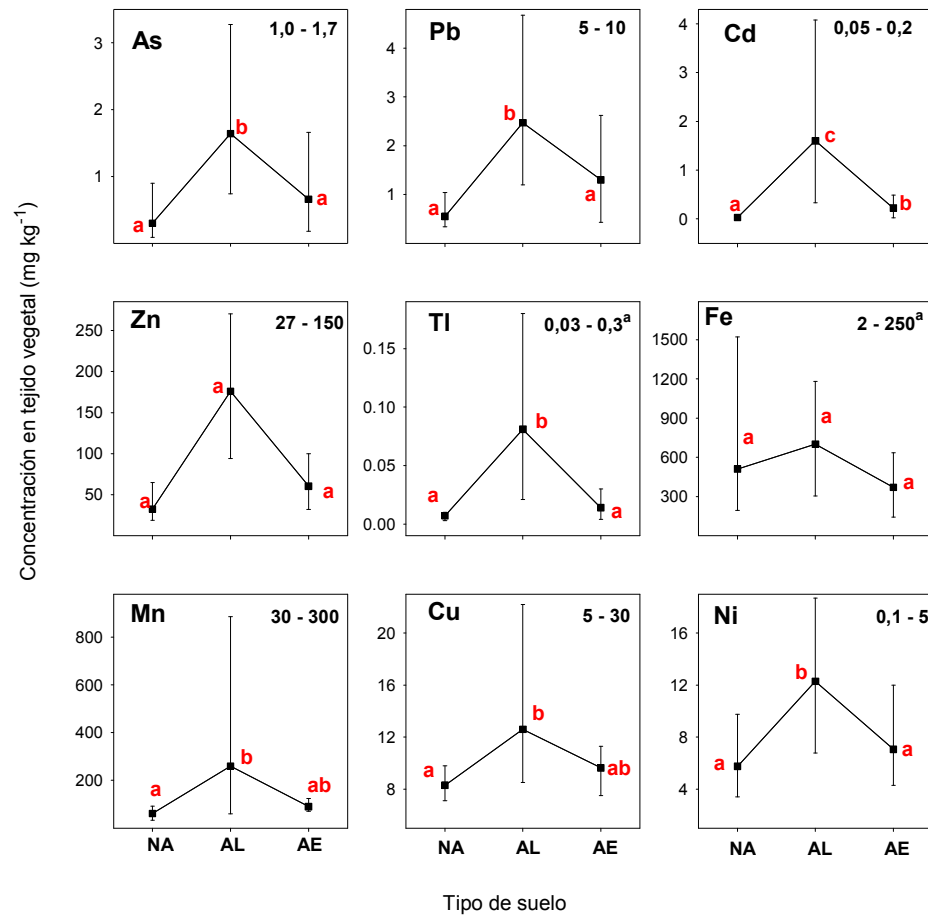
#### 5.4.3.2. Concentración de elementos traza

Agrupando las plantas en función de los tres tipos de suelo descritos con anterioridad (NA, suelos de referencia; AE, suelos afectados, pero limpiados y enmendados; AL suelos afectados sin limpiar ni enmendar), se comprueba que las mayores concentraciones de elementos traza se alcanzan en los de tipo AL (hay que tener en cuenta que se trata de suelos aislados, poco representativos del estado actual de la cuenca).

En los suelos tipo AL, las concentraciones de As, Pb, Cd, TI y Ni en los tejidos de la grama fueron mayores significativamente, que en los suelos de referencia y tipo AE (enmendados). Sin embargo, salvo en el caso del Cd, no se registraron diferencias significativas entre los tipos de suelo, AE y NA, lo que prueba la eficacia de las labores de limpieza y la aplicación de las enmiendas, al menos para algunos elementos (Fig. 5.5).

Las concentraciones de Cu y Mn también fueron mayores en los suelos del tipo AL; sin embargo las diferencias entre AE y NA no resultaron significativas. En el caso de Zn y Fe no se registraron diferencias significativas en ningún caso, debido a la variabilidad de las concentraciones de cada grupo de plantas; sin embargo, comparado por pares (*t*-Student) el Zn fue significativamente mayor en AL respecto al control NA (Fig. 5.5).

Cabe destacar el mayor contenido de Mn y Ni en las plantas de los suelos del tipo AL, teniendo en cuenta su escasa relevancia en la composición del vertido (Cabrera *et al.*, 1999).

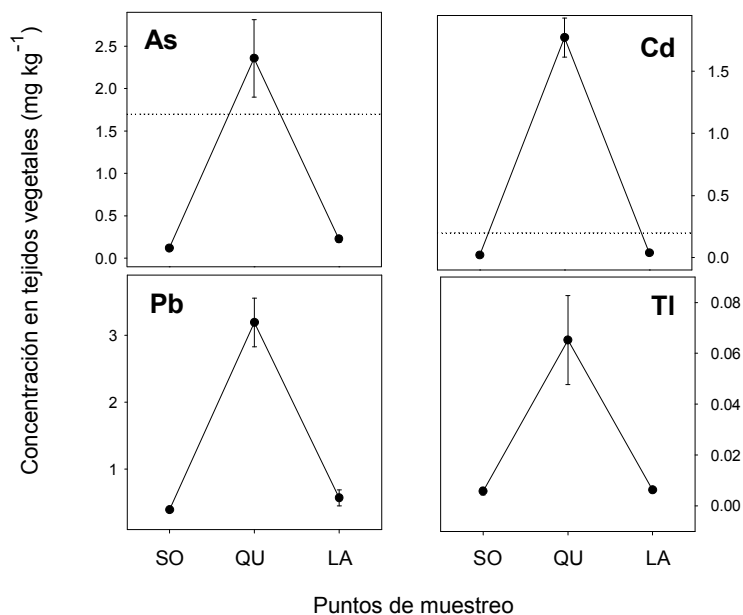


**Figura 5.5.** Concentración de elementos traza en grama recolectada en 3 situaciones: suelo no afectado (**NA**, n = 9), suelo afectado de difícil acceso para la limpieza (**AL**, n = 9) y suelo afectado limpiado y enmendado (**AE**, n = 9). Se indica la media e intervalo entre los valores máximos de cada zona. Para cada elemento y tipo de suelo, letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). En el extremo superior derecho aparecen los valores normales en plantas (Kabata-Pendias y Pendias, 1992; <sup>a</sup> Bowen, 1979).

Los resultados obtenidos para Mn, pueden ser debidos a que las gramíneas toleran elevadas concentraciones de Mn en sus tejidos (Foy *et al.*, 1998) y parecen responder a pequeños cambios de concentración, o disponibilidad, en el suelo; pudiendo haber ocurrido algo similar en el caso del Ni.

Las concentraciones de elementos traza alcanzadas por las gramas no parecen resultar tóxicas atendiendo a las producciones de biomasa obtenidas. Sin embargo, hay que destacar que las concentraciones de Cd en los suelos de tipo AL estuvieron muy por encima de las concentraciones consideradas normales en plantas (Fig. 5.5).

Tanto Fe como Ni, superan en los 3 tipos de suelo las concentraciones dadas como normales en las plantas. En el caso del Ni este incremento no resulta tan acusado en las gramas de los suelos NA y AE, mientras que para el Fe, los valores estuvieron muy por encima de este intervalo, incluso en los puntos de referencia (Fig. 5.5). Las gramíneas son plantas capaces de absorber grandes cantidades de Fe (Kabata-Pendias y Pendias, 1992).



**Figura 5.6.** Concentración de As, Cd, Pb y Tl en tejidos de grama recolectada en los puntos: SO (no afectado, n = 3), QU (zona afectada de difícil acceso para la limpieza, n = 3) y LA (zona afectada limpiada y enmendada, n = 3). Se indica la media  $\pm$  error estándar. Con línea punteada se indican los valores normales en plantas (según Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

En este sentido, conviene indicar que la agrupación de suelos realizada, NA, AL y AE, pretende cubrir en lo posible la variabilidad interna existente en cada

grupo, dentro de la cuenca. Los estudios de suelos en cada punto por separado ( $n = 3$ ) reflejaron distintos niveles de contaminación dentro de cada uno de los 3 tipos descritos. De igual manera que en los suelos, si tratamos los valores de concentración de las plantas por puntos de muestreo, se obtienen algunas diferencias. Seleccionando sólo algunos de los puntos más representativos, SO como suelo de referencia ( $n = 3$ ), y DO y LA ( $n = 3$ ) como suelos de fuerte y baja contaminación, respectivamente, las diferencias de concentración de elementos traza en la grama serán mucho más acusadas (Fig. 5.6). En este caso, tanto la concentración de Cd, como la de As (aunque no el Pb y TI) están por encima del valor considerado normal en plantas superiores.

#### **5.4.4. Comparación entre las fracciones verde y seca**

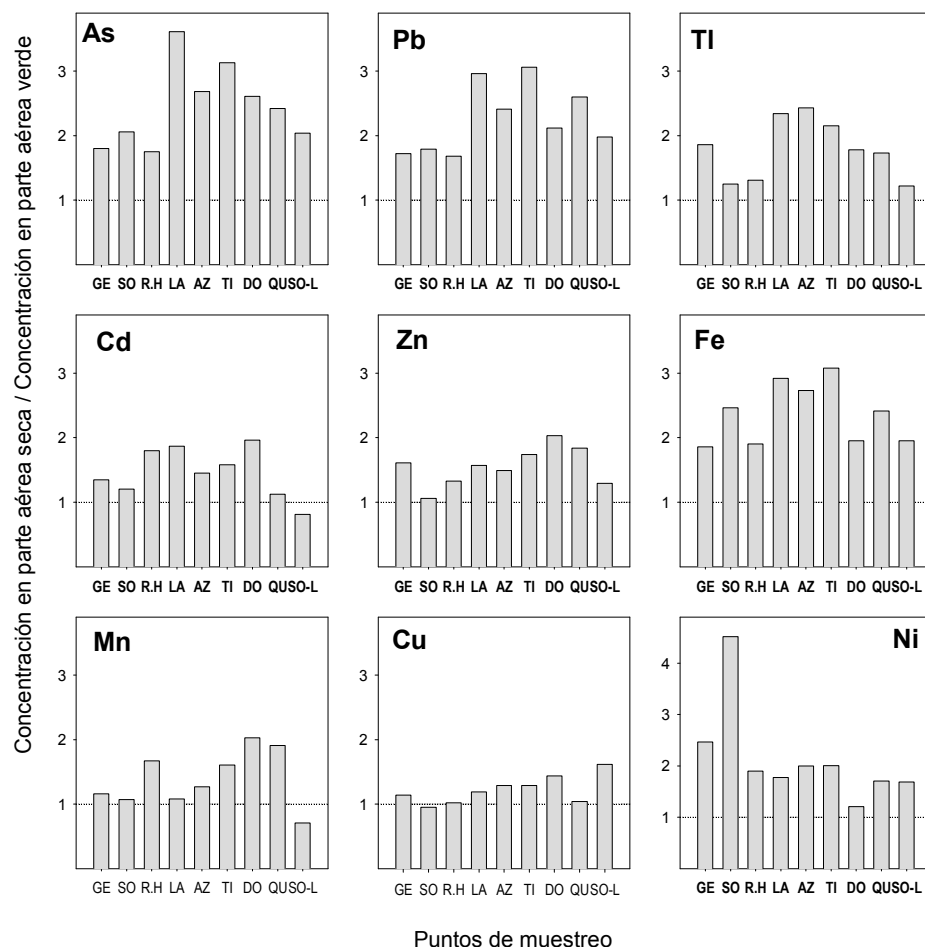
Las plantas superiores cuentan con mecanismos muy diversos de tolerancia/resistencia a elementos traza (Prasad y Hagemeyer, 1999), siendo uno de ellos la translocación y acumulación en las partes más viejas, metabólicamente inactivas (Bargagli, 1998; Ernst *et al.*, 1992; Dahmani-Muller *et al.*, 2000).

En la Fig. 5.7 se presenta la comparación entre las fracciones verdes (activas) y secas (inactivas) de grama, en función de la concentración de varios elementos traza.

La mayor diferencia entre la fracción verde y seca correspondió al As, en particular, en los sitios afectados (unas 3 veces), más que en los no afectados (unas 2 veces). Las diferencias mayores se obtuvieron en los puntos LA, TI, DO y AZ, muy contaminados los dos últimos. El que la razón mayor haya correspondido a LA puede ser debido a la menor concentración de As en la fracción verde de la grama de este punto, menos contaminado.

Tras el As, los elementos que experimentaron mayores diferencias entre la fracción verde y seca fueron Pb y TI (2,5 veces y 2 veces mayor en los suelos afectados respectivamente); las mayores diferencias tienden a aparecer de nuevo en las gramas de puntos limpiados y enmendados como LA y TI para el Pb y LA, AZ y TI para el TI (Fig. 5.7). En el caso del Pb también se han obtenido valores altos en el punto de difícil acceso QU.

El hecho de que las mayores diferencias correspondan a As y Pb, elementos más tóxicos, puede reflejar la existencia de mecanismos de acumulación preferencial en las partes viejas de la planta, ante situaciones de estrés.



**Figura 5.7.** Razón entre las concentraciones de cada uno de los elementos traza en la parte aérea seca y la parte aérea verde, en los distintos puntos de muestreo.

La acumulación en la fracción seca de la planta de elementos como Cd, Zn, Cu y Mn (Fig. 5.7) fue comparativamente más baja, consecuencia tal vez de su menor fitotoxicidad. Hierro y Ni, especialmente el primero, también tienden a acumularse en las partes más viejas, aunque en este caso el proceso fue bastante más acusado en los suelos de referencia, al contrario que los otros elementos (Fig. 5.7).

También hay que tener en cuenta que las partes secas, más próximas al suelo, son más propensas a su contaminación con polvo, lo que afectaría sobre

todo a elementos como Fe (Reiman *et al.*, 2001b), Pb (Singh *et al.*, 1997), y en este caso, por la composición del vertido, al As. Esta circunstancia podría haber contribuido en parte a los resultados obtenidos.

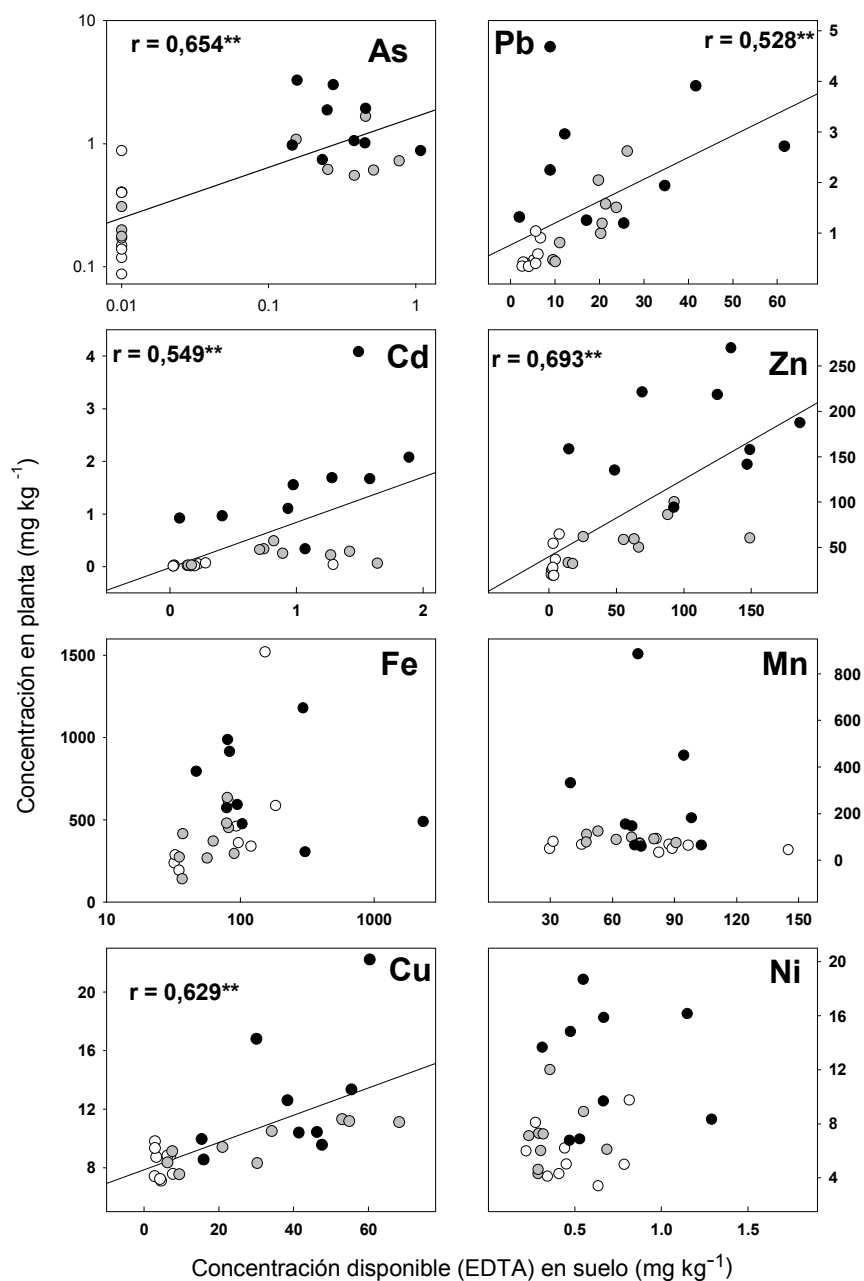
#### **5.4.5. Relación Suelo-Planta**

La concentración de elementos traza en los tejidos vegetales no siempre está correlacionada con su concentración en la solución del suelo. Para el estudio de la relación de los elementos traza en suelo y planta, se han usado los valores correspondientes a la extracción con EDTA, indicadores de la fracción que puede ser más disponible para la planta.

En el caso de los elementos Cd, Cu, Pb y Zn se obtuvieron correlaciones estadísticamente significativas ( $p < 0,01$ ). La mejor correlación se obtuvo para el Zn ( $r = 0,7$ ), siendo más bajas las obtenidas para Cd, Cu y Pb (Fig. 5.8).

La mejor correlación para Cd y Zn se puede explicar por la movilidad en el suelo de ambos elementos, comparativamente alta y la facilidad con la que son absorbidos por la planta. Para Pb y Cu, a pesar de que son retenidos en el suelo con mayor facilidad (y además el Pb también en la raíz, una vez absorbido por la planta, Kabata-Pendias y Pendias, 1992), también se han obtenido correlaciones razonablemente altas, lo que demuestra que parte de la fracción disponible fue absorbida y transportada hacia la parte aérea de la grama. En el caso del Pb también hay que tener en cuenta la contribución de una posible absorción foliar de este elemento (Singh *et al.*, 1997).

En un estudio previo (Madejón *et al.*, 2002) de la correlación entre elementos traza en suelos y grama, para muestras de 1999 se obtuvieron correlaciones más altas para Cd ( $r = 0,95$ ), Zn ( $r = 0,85$ ) y Pb ( $r = 0,63$ ). Sin embargo, no fueron significativas para el Cu. Las variaciones interanuales en el nivel de significación de las correlaciones suelo-planta pueden tener causas diversas, ya que en la naturaleza son muy numerosas las variables, no controladas, que pueden afectar a este tipo de relaciones; incluso las variaciones periódicas de disponibilidad que puede experimentar el lodo residual. Además, la acumulación de metales en las plantas no sólo varía con el elemento en cuestión, especie y órgano, sino también con la edad (estado de desarrollo en plantas anuales) de la misma (Barman *et al.*, 2000).



**Figura 5.8.** Correlación entre la concentración de elementos traza disponibles en el suelo y los contenidos de estos elementos en los tejidos de la grama (en el caso del As se ha empleado escala logarítmica). Puntos no afectados, en blanco, puntos limpiados y enmendados, en gris, y puntos afectados de difícil acceso para su limpieza, en negro. Se indica el valor del coeficiente de correlación  $r$  y la significación (\*\*  $p < 0,01$ ).



Para el Cu se ha obtenido una correlación significativa (Fig. 5.8), cuando en años anteriores no la hubo. La correlación fue mejor a medida que aumentó la concentración en el suelo (por encima de  $20 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Puede ocurrir que a concentraciones relativamente bajas, la absorción de Cu esté regulada por la planta, comenzando a ser pasiva a concentraciones más altas (Kabata-Pendias y Pendias, 1992). De todas formas este hecho no explicaría la ausencia de correlación en los años anteriores.

Para Fe, Mn y Ni, las correlaciones suelo-planta no fueron significativas. En el caso del Fe y Ni, tampoco se obtuvieron correlaciones significativas en muestreos anteriores (sólo en el caso del Mn se obtuvo, ocasionalmente, una significación razonable). Para el Fe, cabe pensar que la notable capacidad que tienen las gramíneas para absorberlo, junto con las interferencias frecuentes que ocasiona la contaminación externa en su determinación (Madejón *et al.*, 2003), pueden haber influido en la falta de correlación; en el caso del Ni, parece más probable la existencia de procesos antagónicos, en su absorción, derivados de la presencia de otros elementos traza en concentraciones elevadas.

Para As se han producido absorciones altas del mismo ante concentraciones relativamente bajas en el suelo (Fig. 5.8), circunstancia que ha imposibilitado la existencia de una correlación significativa cuando se utilizan los valores normales. Sin embargo, se obtuvo una correlación significativa cuando se utilizó una escala logarítmica.

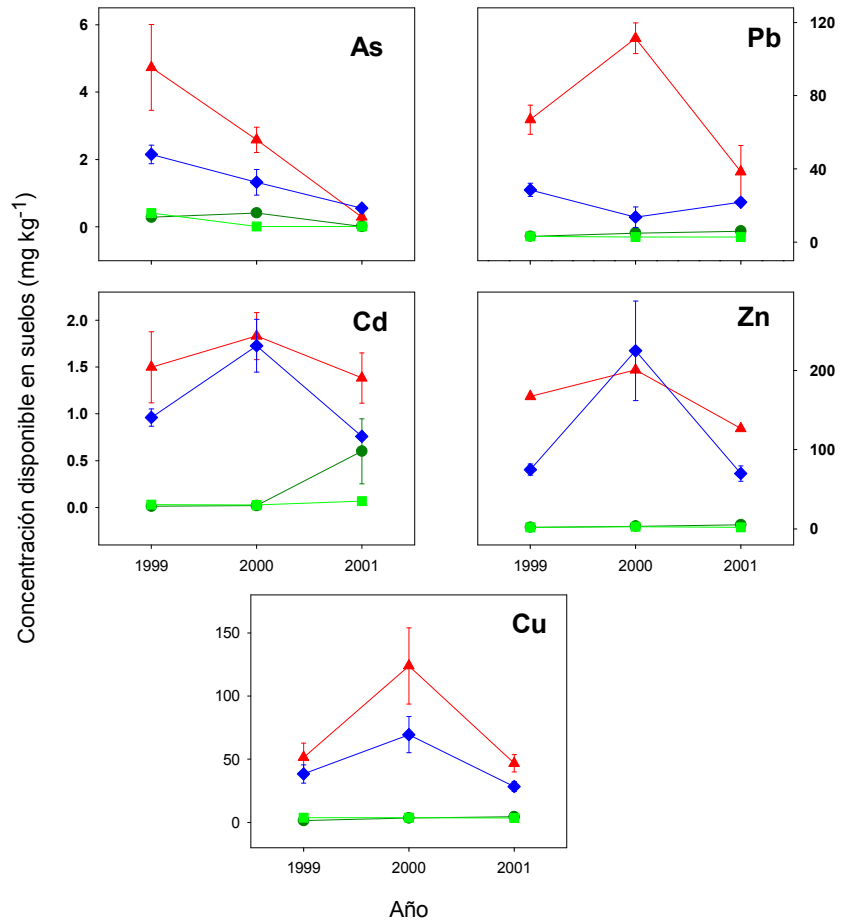
En resumen, atendiendo a los resultados obtenidos se puede inferir que: Cd, Cu, Pb y Zn tienden a acumularse en los tejidos vegetales, en mayor grado en los suelos más contaminados; es decir, las concentraciones en la grama (parte aérea) y en el suelo (fracción extraíble con EDTA) están correlacionadas positiva y significativamente. En el caso del As parece existir cierta dependencia no lineal, de tipo logarítmica.

Las concentraciones de Fe, Mn y Ni en los tejidos vegetales (parte aérea) parece ser independiente de su concentración en el suelo (extracción con EDTA).

## 5.5. VARIABILIDAD TEMPORAL DEL SISTEMA SUELO-PLANTA

### 5.5.1. Suelo: Variaciones en la concentración de elementos traza

Una vez examinada la variabilidad espacial entre los diferentes puntos de muestreo, a continuación se analiza la variabilidad temporal durante los años 1999, 2000 y 2001.



**Figura 5.9.** Evolución de la concentración disponible de As, Cd, Cu, Pb y Zn en suelos no afectados, GE (●) y SO (■) suelos limpiados y enmendados, AZ (◆), y suelo de difícil acceso, DO (▲). Valores medios  $\pm$  error estándar (n = 3).

La figura 5.9 muestra la evolución interanual de la fracción disponible (extracción con EDTA) de As, Pb, Cd, Zn y Cu (elementos más abundantes y/o de mayor relevancia en el vertido) en dos puntos de referencia (GE y SO) y dos puntos afectados (AZ, limpiado y enmendado y DO de difícil acceso para su limpieza). Los cinco elementos seleccionados dan una idea de la dinámica de este tipo de elementos en los suelos estudiados. Se trata sólo de valores orientativos debido a que los puntos de muestreo no eran exactamente los mismos de un año a otro, por lo que las variaciones temporales a pequeña escala, debieron estar fuertemente influenciadas por las variaciones espaciales, sobre todo en los suelos afectados, donde la distribución del lodo residual era muy errática.

Según se observa en la figura 5.9, el As es el único de los cinco elementos estudiados cuya concentración disponible tiende a descender en los suelos afectados, mientras que en los de referencia no se observan apenas cambios (comportamiento que también siguen el resto de elementos en los suelos de referencia). El As presentó variaciones temporales significativas en los cuatro puntos de muestreo (Tabla 5.8).

La concentración disponible de Pb, Cd, Zn y Cu siguió la misma tendencia (menos el Pb en AZ, donde descendieron las concentraciones, como en el caso del As); así los puntos muestreados en el segundo año de estudio en los suelos afectados de DO y AZ alcanzaron mayores concentraciones de metales disponibles; este mismo hecho también sucede para estos mismos elementos cuando se consideran las concentraciones totales (datos no presentados). El Pb presentó variaciones temporales en dos puntos (GE y DO), el Cd y Zn sólo en un punto (AZ) y el Cu en ninguno (Tabla 5.8).

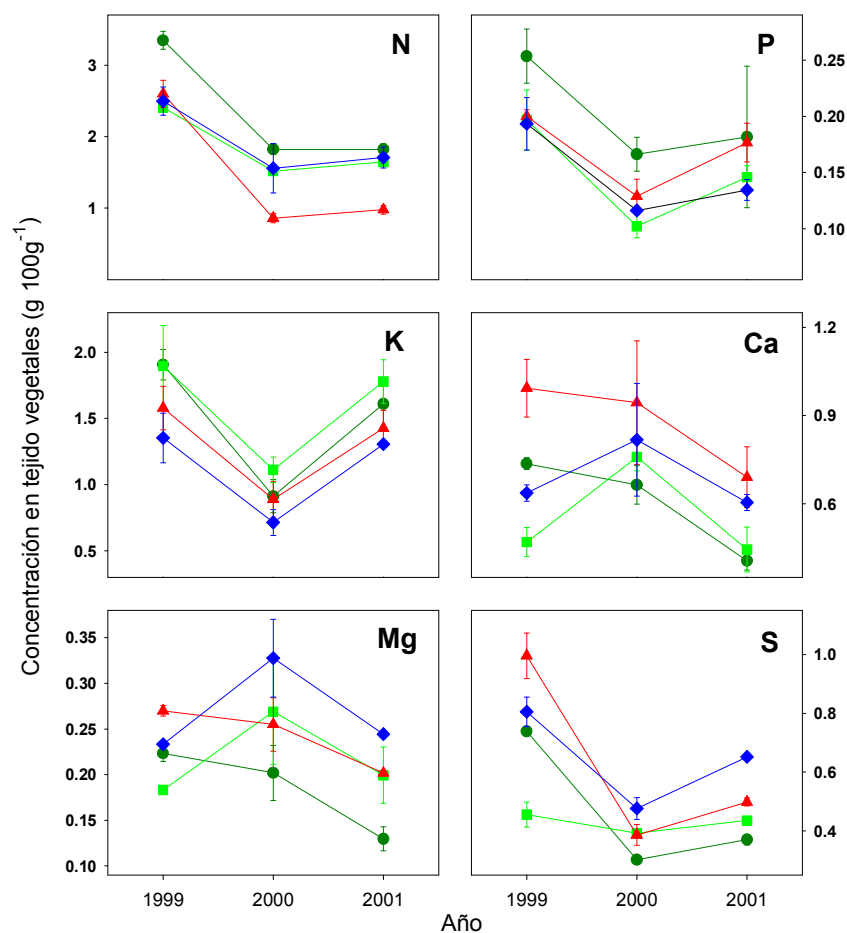
**Tabla 5.8.** Significación del ANOVA entre los tres años de estudio de las concentraciones disponibles de los suelos de la grama. Valores medios y error estándar en Fig. 5.9.

Punto	ANOVA	As	Pb	Cd	Zn	Cu
GE	F	7,86	16,40	2,85	3,22	3,77
	p	0,021	0,004	0,135	0,107	0,087
SO	F	58,04	0,84	1,23	1,123	0,216
	p	0,000	0,476	0,357	0,385	0,816
DO	F	8,31	11,89	0,584	0,872	5,151
	p	0,019	0,008	0,587	0,465	0,050
AZ	F	8,16	3,68	8,703	5,69	5,03
	p	0,019	0,090	0,017	0,041	0,052

### 5.5.2. Planta: Variabilidad temporal

#### 5.5.2.1. Planta: variaciones en la concentración de nutrientes

Como en el caso de los suelos, en este apartado sólo se recogen los resultados de cuatro puntos que fueron muestreados durante los tres años de estudio: dos puntos de referencia o control (GE y SO) y dos afectados (AZ y DO).



**Figura 5.10.** Evolución de los nutrientes N, P, K, Ca, Mg y S en gramos sobre suelos de referencia GE (●) y SO (■), y sobre suelos afectados, AZ (◆) y DO (▲). Valores medios  $\pm$  error estándar.

Los nutrientes básicos N, P, K y S tuvieron una evolución temporal bastante similar, en el sentido de que su concentración descendió claramente del primer al segundo año de estudio, manteniéndose posteriormente (3<sup>er</sup> año), en el caso del N y del P, o tendiendo a aumentar (caso del K y del S; Fig. 5.10).

Se produjeron variaciones puntuales dentro de este comportamiento general. Por ejemplo, los descensos de concentración del primer al segundo año no resultaron significativos para el N en el punto de AZ, para el P en GE, para el K en SO y DO. Aumentos significativos en las concentraciones de K y S sólo se registraron en GE y AZ para el K, y en DO y AZ para el S. La significación global obtenida se muestra en la Tabla 5.9.

Con la información disponible, no se puede especificar cuáles fueron las variables edafo-climáticas que motivaron el descenso generalizado de concentraciones experimentadas por N, P, K y S en el segundo año. Sin embargo, la distribución de lluvias previas a los muestreos, parecen indicar que en los años primero y tercero debió existir mayor humectación del terreno (lluvias más copiosas, Tabla 5.10) lo que pudo conducir a una mayor movilidad de nutrientes (durante el segundo año, además, las temperaturas mínimas de octubre, antes del muestreo, resultaron comparativamente bajas).

De forma muy general, puede afirmarse que durante los tres años de estudio, las concentraciones más bajas de N y K, y la más alta de S, se registraron en los suelos contaminados de DO y AZ; sin embargo con el P no se obtuvo un comportamiento definido (Fig. 5.10).

**Tabla 5.9** Significación del ANOVA entre los tres años de estudio de los contenidos de nutrientes en la grama. Valores medios y error estándar en Fig. 5.10.

Punto	ANOVA	N	P	K	Ca	Mg	S
GE	F	21,16	1,36	11,52	16,13	6,25	203,8
	p	0,002	0,326	0,009	0,004	0,034	0,000
SO	F	87,65	7,31	4,08	8,76	1,46	1,50
	p	0,000	0,025	0,076	0,017	0,305	0,29
DO	F	63,73	6,98	6,17	1,23	4,33	42,61
	p	0,000	0,027	0,035	0,357	0,069	0,000
AZ	F	4,21	7,59	8,46	1,03	4,37	20,52
	p	0,072	0,023	0,018	0,441	0,067	0,002

La evolución temporal de las concentraciones de Ca y Mg no tuvo un patrón definido en los dos primeros años, ya que se registró una tendencia al ascenso en AZ y SO (sólo significativa para el Ca en SO), y al descenso en GE y DO, aunque nunca significativa. Del segundo al tercer año sí se registró una tendencia general al descenso, con diferencias significativas para el Ca en los puntos de GE y SO.

**Tabla 5.10.** Precipitación mensual (mm) durante los 3 años de estudio en la estación de la finca experimental La Hampa, Coria. Las celdas sombreadas corresponden a la época previa al muestreo.

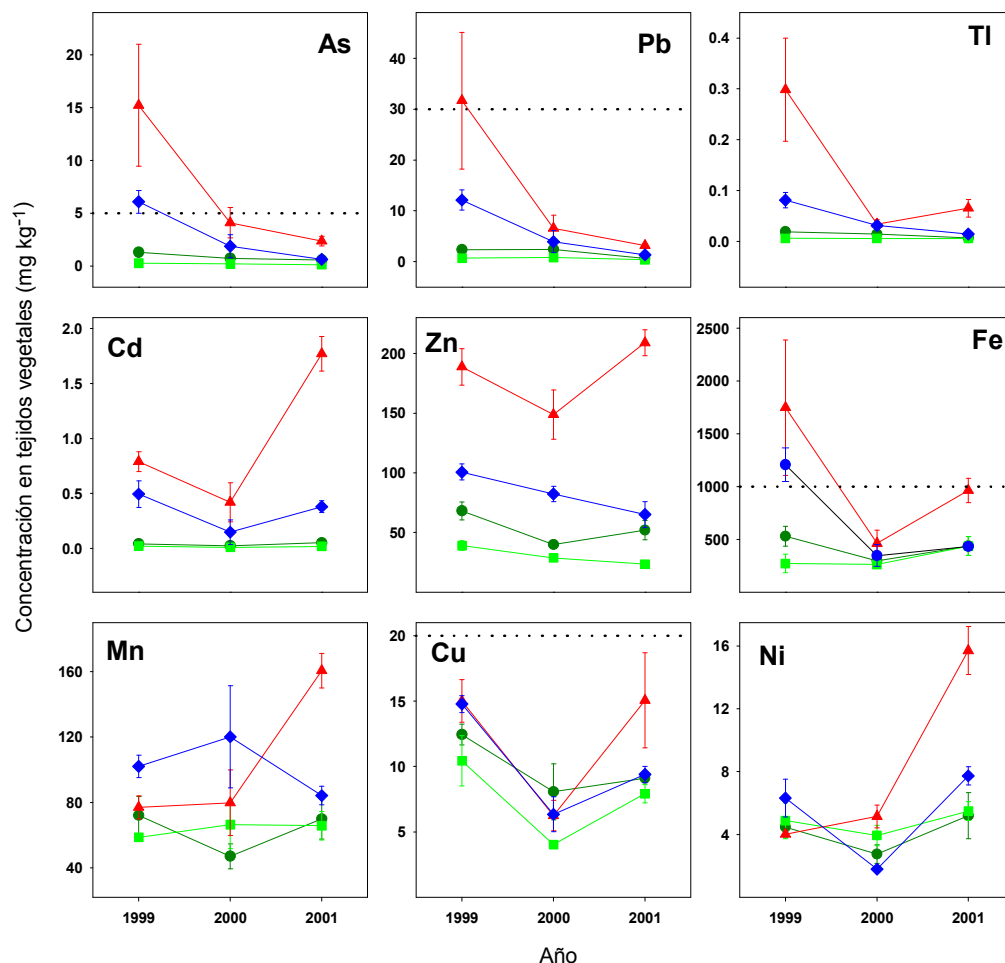
Mes	Año 1999	Año 2000	Año 2001
Enero	34,0	31,0	180
Febrero	6,0	2,7	26,1
Marzo	16,5	29,4	176
Abril	19,0	114	1,4
Mayo	12,0	58,1	10,6
Junio	0,0	11,2	2,5
Julio	0,0	2,0	0,4
Agosto	0,0	1,6	0,2
Septiembre	70,0	11,6	85,1
Octubre	302,0	43,0	84,0
Noviembre	4,0	78,5	109,0
Diciembre	21,0	224	53,5
<b>Total</b>	<b>485,5</b>	<b>607,1</b>	<b>728,8</b>

Las mayores concentraciones de Ca se registraron, por lo general, en los puntos contaminados de AZ y DO, lo que podría interpretarse como una respuesta de "protección" de la planta ante la situación de estrés creada por los elementos traza, aspecto descrito con anterioridad por otros autores (Carbonell *et al.*, 1998). Este aumento de Ca en los puntos afectados también puede ser debido a pequeños cambios de pH en estos suelos, lo que hace que aumente el Ca en la solución del suelo. Otros autores, como Wallace (1966), demostraron que las necesidades de Ca de la planta aumentan ante la presencia de metales pesados.

#### 5.5.2.2. Planta: variaciones en la concentración de elementos traza

Cuando se examina el patrón evolutivo de los elementos traza As, Pb, Cd, Zn y Tl (Fig. 5.11), se observa una diferencia importante respecto del patrón evolutivo de los elementos mayoritarios, que se acaban de comentar: no es el mismo para las plantas de los suelos de referencia y la de los suelos contaminados.

En conjunto, las concentraciones de las plantas de los suelos de referencia, GE y SO, fueron comparativamente bajas y bastante similares durante los 3 años de estudio (al margen de la significación registrada en ocasiones puntuales). La Tabla 5.11 recoge la significación global obtenida.



**Figura 5.11.** Evolución de los elementos traza As, Pb, Tl, Cd, Zn, Fe, Mn, Cu y Ni en gramos sobre suelos de referencia, GE (●) y SO (■), y sobre suelos afectados, AZ (◆) y DO (▲). Valores medios  $\pm$  error estándar. Con líneas punteadas se indican los valores fitotóxicos (según Kabata-Pendias y Pendias, 1992) en los casos donde se alcancen o acerquen a dichos valores.

Elementos como As, Pb y Tl, poco móviles en los suelos estudiados (Vidal *et al.*, 1999), mostraron una acusada tendencia al descenso, del primer al segundo año de

estudio, aunque las diferencias no siempre resultaron significativas debido a la dispersión de los resultados existente en ocasiones (por ejemplo, As y Pb en el punto de DO).

Las concentraciones medias de As y Pb de los puntos de DO y AZ, y la de Pb en DO del primer año, superaron o fueron del orden del límite superior del intervalo de fitotoxicidad para plantas. Durante el segundo, y especialmente tercer año, en el caso del As, se mantuvieron por debajo de este límite de fitotoxicidad.

Estos resultados parecen sugerir que, al margen de la influencia de otras variables edafo-climáticas que pudieron haber influido en su absorción, las elevadas concentraciones de As, Pb y TI registradas en los tejidos de la grama de AZ y DO en 1999, también pudieron estar influenciadas por las intensas labores de limpieza realizadas en la mayor parte del primer año. Estas labores generaron de manera continua una nube de polvo, rica en elementos traza, que pudo potenciar en cierta medida la absorción foliar de estos elementos. De hecho, de los casos donde se obtiene significación en la evolución temporal de las concentraciones de elementos traza (Tabla 5.11), en un 50 % de los casos, esta significación es debida a la disminución experimentada del primer al segundo año de estudio.

**Tabla 5.11.** Significación del ANOVA entre los tres años de estudio de los contenidos de elementos traza en la grama. Valores medios y error estándar en Fig. 5.11.

Punto	ANOVA	As	Pb	TI	Cd	Zn	Fe	Mn	Cu	Ni
GE	F	2,85	8,92	6,93	2,48	4,85	2,23	1,66	2,94	1,60
	p	0,135	0,016	0,028	0,164	0,056	0,189	0,226	0,129	0,278
SO	F	0,92	1,42	0,005	5,86	6,89	0,099	0,194	7,43	0,872
	p	0,448	0,312	0,995	0,039	0,028	0,907	0,829	0,024	0,465
DO	F	4,09	3,87	5,89	22,93	3,65	2,86	12,01	4,49	43,6
	p	0,076	0,083	0,038	0,002	0,092	0,134	0,008	0,064	0,000
AZ	F	10,38	10,91	12,09	3,14	4,67	18,13	0,926	20,94	16,15
	p	0,011	0,010	0,008	0,117	0,060	0,003	0,446	0,002	0,004

Esta hipótesis se ve reforzada por el patrón opuesto que presentan estos elementos disponibles en suelo (Fig. 5.9), que experimentan una subida muy acusada en el segundo año de estudio, al contrario que la planta, cuyas concentraciones fueron más altas en el primer año, debido en parte, a una posible mayor absorción foliar. Además, las lluvias previas al primer muestreo (y tercero)



podieron aumentar la movilidad de elementos traza en el suelo, lo que debió facilitar su absorción por la planta (Tabla 5.10).

En el caso de elementos más móviles, como Cd y Zn, también se observó una tendencia general al descenso, del primer al segundo año, tendencia que no se mantuvo en el período siguiente (segundo al tercer año), salvo para el Zn en AZ y SO.

Cabe destacar el fuerte aumento que experimentó el Cd en el último año de muestreo en el punto DO (significativamente mayor que en los dos años anteriores), circunstancia que refleja que en enclaves muy contaminados de la cuenca, la disponibilidad del Cd para la planta puede continuar siendo alta.

El comportamiento de los elementos Fe y Cu resultó bastante parecido al descrito para los elementos más móviles, Cd y Zn, a pesar de que la movilidad en suelo de Fe y Cu es más baja. Se produjo un descenso inicial en la concentración de ambos elementos, siendo significativa para Fe en AZ y para el Cu en AZ y SO (punto de referencia), y una tendencia posterior al ascenso, a partir del año 2000 aunque sin diferencias significativas en ningún caso (Fig. 5.11).

En el caso del Fe, las concentraciones registradas en el primer año en las plantas de los puntos afectados, DO y AZ, superaron el límite de fitotoxicidad de 400-1000 mg kg<sup>-1</sup> referido por Römheld y Marschner (1991). Al margen de variables edafo-climáticas que pudieran haber potenciado su absorción (como la de As, Pb y Tl), la fuerte contaminación de polvo generada por las labores de limpieza pudo haber afectado de forma particular a este elemento. En el caso del Cu, nunca llegaron a registrarse concentraciones fitotóxicas para la planta.

Del Mn sólo cabe destacar el aumento, significativo, que se registró en el punto DO, paralelo al descrito para otros elementos (Cd especialmente). El comportamiento del Ni resultó similar, en cierta medida al de Cd, Tl, Fe y Cu, salvo que el descenso inicial de concentraciones no fue generalizado, ya que aumentó en DO (Fig. 5.11). Sí fue generalizado el aumento que se produjo en el último año de estudio, con diferencias significativas en las zonas afectadas de DO y AZ.

En resumen: elementos como As y Pb parecen estabilizados, en cuanto a su disponibilidad, en los suelos afectados por el vertido. Otros elementos más móviles como Cd, Zn, Tl e incluso Cu, Fe, y Ni, también parecen estar estabilizados en una zona como AZ, donde las labores de limpieza y aplicación de enmiendas parecen haber sido muy efectivas. En puntos más inaccesibles a estas labores, como DO, sigue detectándose una disponibilidad comparativamente alta de estos elementos,

excepto TI, hasta el extremo de que las mayores concentraciones se obtuvieron durante el tercer año de estudio.

Es importante puntualizar que en situaciones como la existente en la cuenca del Guadiamar, resultados de tres años no son suficientes para emitir juicios definitivos sobre evolución que pueden experimentar los contaminantes derivados del vertido.

## **5.6. IMPLICACIONES PARA LA RED TRÓFICA**

Uno de los principales problemas de los elementos traza radica en que, a concentraciones elevadas, pueden resultar tóxicos para las plantas y los animales, y en general para los componentes de la red trófica.

Una vez en el medio, los metales pesados y metaloides, como el As, pueden estar ocupando distintos eslabones en la red trófica: agua-planta-animal-ser humano. En los seres vivos se produce una acumulación preferencial en determinados tejidos (en los animales el exceso de elementos traza se suele acumular principalmente en la sangre, riñones e hígado; Gupta y Gupta, 1998), siendo determinante la duración de la exposición y el nivel de contaminación en el ambiente (Hapke, 1991).

Un aspecto importante a tener en cuenta es que la vegetación siempre presenta cierto nivel de contaminación externa (suelo adherido), que en casos extremos puede suponer un problema importante para los consumidores primarios, aunque no para la propia planta. Bajo ciertas condiciones edafoclimáticas, un animal puede llegar a consumir, con el pasto, cantidades de suelo superiores a 1 kg diario (Healy, 1973).

Al ser la grama una planta rastrera, presenta con frecuencia cantidades apreciables de suelo en la parte aérea. En estas condiciones sería consumida por los animales; de ahí el interés que tiene conocer las concentraciones en muestras tomadas directamente, sin ser lavadas.

En este apartado se comparan los resultados obtenidos en el primer año (18 meses después del accidente) y el último año de estudio (42 meses después).

Cuando se compararon las concentraciones de elementos traza en muestras lavadas y sin lavar procedentes de los suelos afectados las mayores diferencias correspondieron a los elementos Fe (2-5 veces), Pb (3-6 veces), As (3-6 veces) y Ni (2-3 veces), siendo menores para Zn (1-1,5 veces), Mn (1-1,4 veces) y Cd (1-

1,5 veces). Además de su acumulación en los lodos, el Fe es un elemento muy abundante en el suelo pudiendo aumentar notablemente su concentración en la planta cuando queda adherido en su superficie. Paralelamente, el lodo residual presente en el suelo puede aportar cantidades importantes de As y Pb. Como indica Thornton (1995) el consumo de suelo adherido a la planta adquiere especial importancia en el caso de estos dos elementos.

### *Arsénico*

Se ha indicado anteriormente que el As fue uno de los elementos traza que causó mayor alarma social debido a su toxicidad. En condiciones normales, la bioacumulación de As en animales a partir de la fracción comestible de las plantas, rara vez tiene efectos tóxicos, debido a que éstas tienden a acumularlo en la raíz (Smith *et al.*, 1998). Sin embargo, altas concentraciones externas derivadas de la concentración en suelo sí podrían ser preocupantes. En el caso de la grama, hay que tener en cuenta, además, que tolera contenidos apreciables de este metaloide en sus tejidos, lo que la convierte con facilidad en una dieta rica en As cuando el suelo está contaminado de este elemento.

Las concentraciones de As en la grama de los suelos afectados fueron mayores en el primer año (1999) que en el último (2001), aunque la diferencia sólo resultó significativa en el punto DO (Fig. 5.12, las barras indican el máximo valor alcanzado en cada punto de muestreo). En ningún caso se superó el nivel máximo tolerado para el ganado de 50 mg kg<sup>-1</sup> (Chaney, 1989, Tabla 5.12).

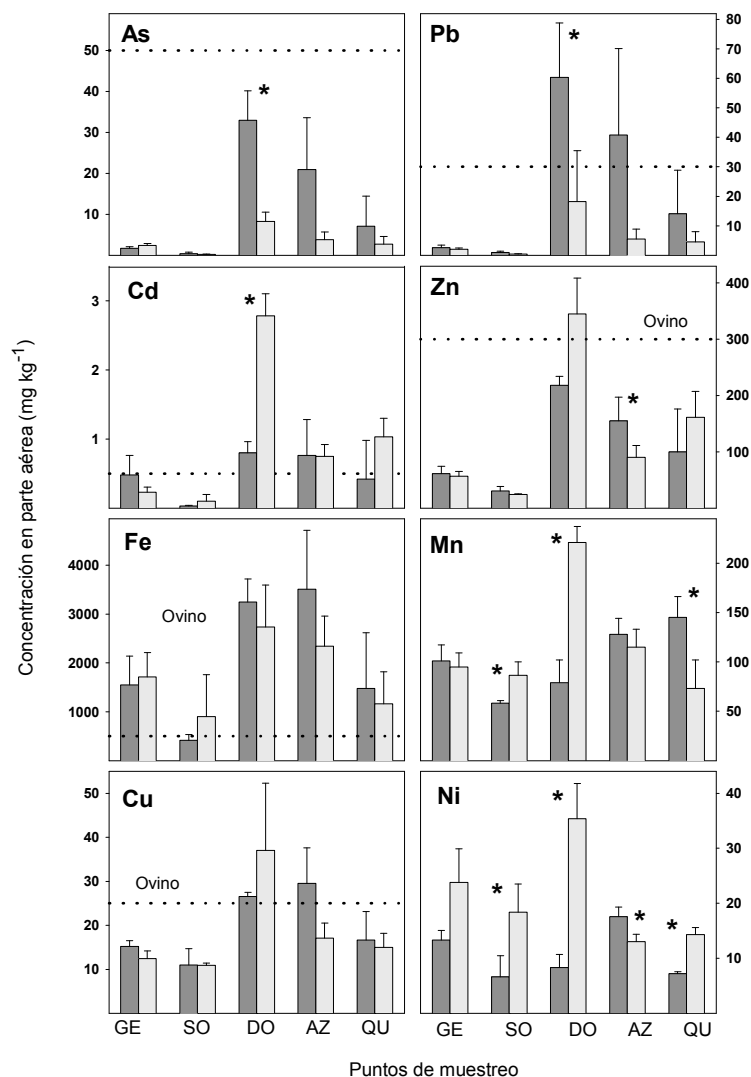
Concentraciones de As superiores a 50 mg kg<sup>-1</sup> sólo se han registrado en la grama sin lavar recolectada en una parcela acotada de la que no se retiraron los lodos con fines experimentales. En esta parcela se alcanzó un máximo de 168 mg kg<sup>-1</sup> (Madejón *et al.*, 2002), lo que demuestra la importancia que tuvo la retirada de los lodos de los suelos afectados (C.M.A., 2001).

Las operaciones de retirada de los lodos ocasionaron densas y persistentes nubes de polvo (Querol *et al.*, 1999), de las que se derivó una importante contaminación externa de la vegetación incluida la grama, en As y Pb (elementos muy abundantes del vertido) de ahí las diferencias del primer y último año (Fig. 5.12).

Aunque el impacto del As suele ser más importante en el medio acuático (algas, crustáceos y peces pueden bioconcentrarlo más de 100 veces), también en

el medio terrestre resulta nocivo ante exposiciones continuas, como agente cancerígeno (Wright y Welbourn, 2002).

#### Plomo



**Figura 5.12.** Concentración de elementos traza en la parte aérea de las gramas sin descontaminar. Concentraciones obtenidas en el año 1999, barras gris oscuro; concentraciones obtenidas en el año 2001, barras gris claro. Se representa el valor medio y el valor máximo obtenido en cada punto (n = 3). El asterisco indica diferencias significativas entre años (p<0,05). En líneas punteadas aparecen los valores tóxicos para el ganado.

La deposición aérea tiene especial importancia en el caso del Pb. Su absorción por la raíz y posterior transporte a la parte aérea suele ser baja en las plantas, siendo efectiva la denominada barrera "suelo-planta" para este elemento (Chaney, 1989; Kabata-Pendias y Pendias, 1992). Según Hapke (1991) el Pb presente en el pasto y en otros alimentos animales procede de la contaminación externa en su mayor parte.

Durante el primer año, la grama (sin lavar) alcanzó concentraciones de Pb superiores a 30 mg kg<sup>-1</sup> en los puntos de DO y AZ, reduciéndose fuertemente estos niveles en el tercer año, aunque algunas muestras aisladas de DO todavía estuvieron muy cerca de este límite (Fig. 5.12). Es importante controlar los niveles de este elemento dada su potencial toxicidad (Dupka y Miller, 1999; Farmer y Farmer, 2000; Palacios *et al.*, 2002; Wright y Welbourn, 2002). Una de las enfermedades que deriva de este elemento es el plumbismo, que resulta de la exposición de altos niveles de Pb, y se manifiesta por efectos sobre el sistema nervioso central, pudiendo producir convulsiones y coma (Wright y Welbourn, 2002).

**Tabla 5.12.** Niveles de concentración tóxicas para el ganado de Chaney (1989); niveles entre paréntesis fueron estimados (por NRC, 1980) extrapolando entre distintas especies animales.

Elemento	Niveles máximos tolerado por el ganado (mg kg <sup>-1</sup> , sobre dieta seca)			
	Bovino	Ovino	Porcino	Avícola
As <sub>inorg</sub>	50	50	50	50
Cd	0,5	0,5	0,5	0,5
Cu	100	25	250	300
			300-500 <sup>a</sup>	
Fe	1000	500	3000	1000
			5000 <sup>a</sup>	
Mn	1000	1000	400	2000
			1000 <sup>a</sup>	
Ni	50	(50)	(100)	(300)
Pb	30	30	30	30
Zn	500	300	1000	1000
		1000 <sup>a</sup>	2000 <sup>a</sup>	

<sup>a</sup> Niveles tóxicos (Annenkov, 1982)

## Cadmio

El Cd es otro elemento traza especialmente tóxico para animales, incluido el hombre (Das *et al.*, 1997; Gupta y Gupta, 1998). Su movilidad en el suelo y la capacidad de las plantas para absorberlo y acumularlo en cantidades altas en sus tejidos, son factores que generan con facilidad dietas potencialmente tóxicas para animales en zonas contaminadas con Cd (Wagner, 1993).

Las concentraciones de Cd de la grama en los suelos afectados por el vertido fueron casi siempre mayores que el límite de toxicidad para el ganado, establecido en  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$  (Tabla 5.12.), considerado excesivo por algunos autores (Beyer, 2000; quien hizo una revisión bibliográfica encontrando que las concentraciones que resultaban tóxicas eran superiores en todos los casos a  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Incluso en el punto de Gerena, establecido como referencia se registraron concentraciones de Cd comparativamente altas (respecto al punto de referencia SO), debido posiblemente a las actividades mineras que hubo antaño aguas arriba de la cuenca, a las cuales nos hemos referido anteriormente.

En este estudio, las concentraciones de Cd fueron incluso mayores, en los suelos afectados, en el tercer año que en el primero, siendo la diferencia significativa en DO (Fig. 5.12). Esto demuestra que la absorción radical y acumulación posterior en los tejidos de la planta debió ser en este caso más importante que la posible deposición atmosférica. En cualquier caso, la cantidad de Cd aportado por el polvo adherido siempre sería mucho más baja que la de otros elementos mayoritarios del vertido (por ejemplo As y Pb).

El hecho de que en el último año de estudio se haya registrado una concentración tan alta de Cd en uno de los puntos afectados (próxima a  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  en DO, Fig. 5.12), sugiere que todavía pueden existir en la zona (otros puntos, otras plantas) concentraciones tóxicas para animales, especialmente para este elemento, aspecto importante para la gestión del Corredor Verde establecido en la zona. Concentraciones superiores a  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  en el punto menos contaminado de los tres afectados (QU, Fig. 5.12) no hacen más que corroborar esta afirmación.

Como indica Thornton (1995), muchas hierbas silvestres pueden poseer concentraciones de Cd más altas que las gramíneas. Del Río *et al.* (2002) han detectado concentraciones de Cd próximas a  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  en algunas *Asteraceas* y *Malvaceas* de la cuenca del Guadiamar.

## *Zinc*

El comportamiento del Zn fue bastante parecido al del Cd, en el sentido de que, salvo en el punto AZ, las concentraciones también fueron mayores en el último año de estudio. También en este caso puede hablarse de una absorción consistente de este elemento por parte de la grama tres años después de ocurrido el accidente. En DO se ha llegado a superar el límite de toxicidad para el ganado ovino (la concentración más alta alcanzada superó los 400 mg kg<sup>-1</sup>, Fig. 5.12). No obstante, suponemos que no debe tratarse de una situación generalizada en la cuenca, donde la accesibilidad para la limpieza de los suelos no fue tan dificultosa como en Las Doblas y otros enclaves aislados (aunque esto ha de ser comprobado en los próximos años).

## *Manganeso, Hierro, Cobre y Níquel*

De los restantes elementos seleccionados, las concentraciones de Mn parecen ser de las más inocuas para la red trófica. Toxicidad debida al Mn no suele ocurrir en plantas silvestres, siendo algo más frecuentes en plantas cultivadas. En general, el Mn no suele plantear problemas para la red trófica en sistemas terrestres; puede ser algo más problemático en sistemas acuáticos (Wright y Welbourn, 2002).

Sólo en el punto DO se registró una concentración de Mn comparativamente alta en el tercer año de estudio, aunque bastante inferior al límite de tolerancia de 400 mg kg<sup>-1</sup> establecido para el ganado porcino. La tolerancia de otra clase de ganado (y posiblemente de muchas especies salvajes) puede ser aún mayor (Tabla 5.12).

El ganado ovino parece especialmente sensible a Fe y Cu (Tabla 5.12) por lo que habrían resultado excesivas las concentraciones registradas en dos de los puntos de muestreo, en el caso del Fe (DO y AZ especialmente) y las de DO y AZ (primer año) en el caso del Cu.

Para el resto de los mamíferos, incluido el hombre, la toxicidad del Cu es baja, ya que su afinidad por la materia orgánica lo hace muy poco biodisponible en la dieta, además de que cuentan con mecanismos de detoxificación de Cu en el hígado y riñones (Wright y Welbourn, 2002). Algo similar ocurre en el caso del Fe, cuya toxicidad es baja, salvo casos de exposiciones excepcionales a este elemento.

Tampoco parecen existir problemas de consideración en el caso del Ni (no fue uno de los elementos mayoritarios del vertido; Cabrera *et al.*, 1999). Sólo en el punto DO se alcanzaron concentraciones próximas a  $40 \text{ mg kg}^{-1}$ , en el último año de estudio, inferiores, aunque ya cercanas, al límite de tolerancia de las especies de ganado más sensibles (bovinos y ovinos). Desconocemos cual puede ser la tolerancia del Ni de los animales salvajes; no obstante, la situación de la cuenca no parece ser alarmante respecto a este elemento.

#### *Efecto e importancia de la limpieza de los suelos*

Con el fin de visualizar la importancia que tuvo la inmediata retirada de los lodos de los suelos afectados, se han representado (Fig. 5.13) las concentraciones de As, Pb y Cd de la grama de uno de los suelos de referencia (Soberbina, SO, que representaría la situación pre-vertido), de la grama tomada ese mismo año en la parcela en la que no habían sido retirados los lodos (situación inmediata al vertido), y las concentraciones que esta planta ha ido alcanzando sucesivamente (en los tres años de estudio) en uno de los suelos que ha sido limpiado y enmendado (Aznalcázar).

Los valores representados corresponden a muestras tomadas directamente, sin descontaminar, esto es, tal y como serían consumidas por los herbívoros. Las barras representan los valores extremos obtenidos en cada caso.

Las concentraciones de Pb y As en la parcela de lodo fueron hasta 300 y 450 veces mayores que en el control, lo que da idea de la fuerte toxicidad potencial que habría supuesto el consumo de grama, en caso de no haberse quitado los lodos de la zona. Según se ha indicado anteriormente, la contaminación con suelo tiene un papel primordial en el caso de estos dos elementos (Thornton, 1995), agravado en este caso por el hecho de que habría que considerar una "contaminación por lodos" más que por suelo.

El hecho de retirar el lodo y aplicar enmiendas (AZ) ocasionó un descenso radical de la concentración de ambos elementos, hasta niveles por debajo del límite de toxicidad establecido para el ganado. Tanto la deposición atmosférica como la disponibilidad de ambos elementos fueron disminuyendo de forma lenta, pero continua, impidiendo que se alcanzaran concentraciones problemáticas para la planta (Fig. 5.13).



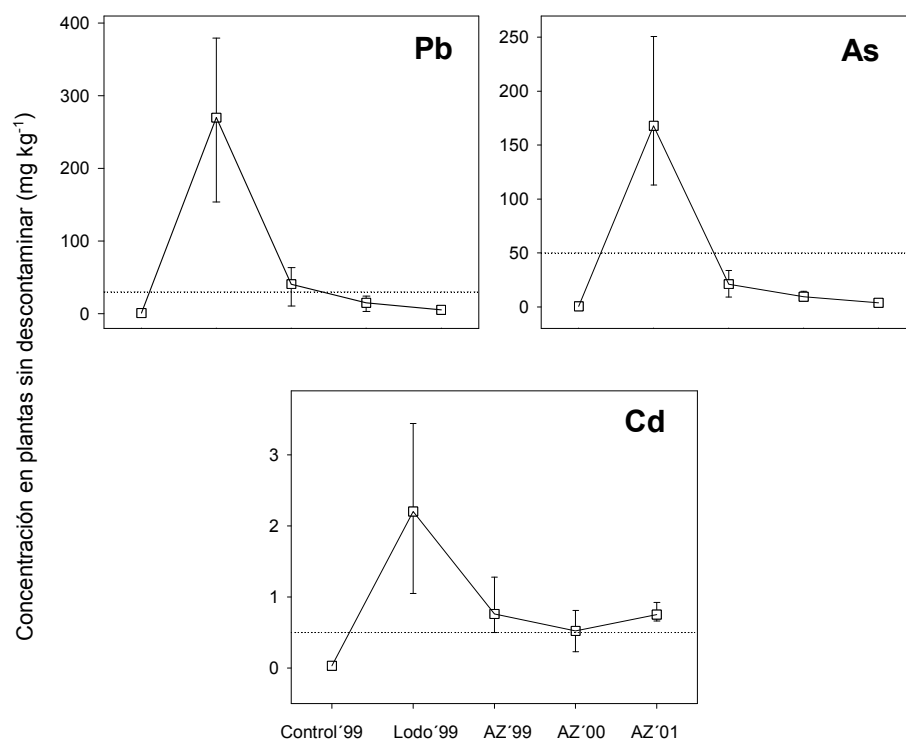
El Cd sin embargo, presentó un comportamiento algo diferente. La grama de la parcela de los lodos alcanzó una concentración de Cd mucho más alta que las obtenidas en los suelos de referencia y suelo remediado (AZ), aunque los aumentos no fueron tan acusados (70 veces más que en los suelos de referencia) como en el caso de Pb y As. La "contaminación con lodos", aun siendo importante, lo fue menos para este elemento.

Sobre todo hay que tener en cuenta que las concentraciones de Cd se mantuvieron siempre por encima de las obtenidas en el suelo de referencia, e incluso por encima del límite de toxicidad establecido para el ganado en los años 1999 y 2001 (Fig. 5.13)

Todo ello corrobora cuanto se ha indicado en un apartado anterior sobre la incidencia potencial que todavía puede tener el Cd en la red trófica de la zona que nos ocupa.

Es cierto que la cantidad de metales absorbidos y utilizados por las herbáceas depende de muchos factores, entre los que se encuentra su biodisponibilidad e interacciones con otros elementos presentes. Existen muy pocas evidencias de procesos de biomagnificación de metales en redes tróficas terrestres. La biomagnificación consiste en la acumulación de una sustancia (en nuestro caso un elemento traza) a través de sucesivos niveles de la cadena trófica; este hecho puede ocurrir si las sustancias no son eliminadas, excretadas o controladas. Este es un fenómeno que sucede a nivel de la red trófica, y no puede aplicarse a un solo organismo o nivel trófico (Wright y Welbourn, 2002). Sin embargo, la literatura especializada coincide en señalar que junto al mercurio, y tal vez Pb, el Cd es el elemento traza con mayor predisposición a ser biomagnificado en redes tróficas terrestres (Beyer, 1986; Parametrix, 1995).

En resumen, los resultados obtenidos para la grama, una de las herbáceas más representativas de la zona, parecen indicar que la problemática potencial que podrían generar elementos tan tóxicos como As y Pb parece haberse normalizado en los suelos afectados; una vez superado el problema que presenta para la red trófica terrestre la contaminación con suelo. Sería otro metal, el Cd, el elemento que por su ubicuidad, toxicidad y mayor propensión a ser magnificado requeriría una monitorización más amplia y específica.



**Figura 5.13.** Concentraciones de Pb, As y Cd en tejidos de grama sin descontaminar recolectada en cinco situaciones diferentes: suelo control (año 1999), suelo cubierto por lodos (año 1999) y suelo contaminado después de haber sido limpiado (años 1999, 2000 y 2001). Se indica la media y el intervalo entre los valores máximos y mínimos ( $n = 3$ ). Con una línea punteada se indica el umbral tóxico para el consumo por el ganado (según Chaney, 1989).

## 5.7. USO POTENCIAL DE LA GRAMA COMO PLANTA BIOINDICADORA Y FITORREMIADORA

Establecer una cubierta vegetal sobre suelos contaminados constituye uno de los primeros objetivos para su recuperación (Bargagli, 1998); especies que toleren las condiciones del medio (autóctonas en su mayoría), son fundamentales

para la estabilización del sustrato, y paralelamente, de las concentraciones contenidas en los mismos.

Las especies con capacidad de tolerar concentraciones relativamente altas de un contaminante (por ejemplo determinados elementos traza) en sus tejidos, es decir con razonable capacidad de bioacumulación (Parametrix, 1995), además de como plantas fitoestabilizadoras, podrían ser utilizadas como plantas bioindicadoras o biomonitoras del contaminante en cuestión (con capacidad para reflejar el nivel de contaminación del sustrato).

Cuando la capacidad de bioacumulación es muy alta, comenzaría su utilización como planta fitoextractora. Aunque la efectividad de esta técnica para la recuperación de extensas zonas contaminadas suele ser muy limitada, debido fundamentalmente a la escasa biomasa que caracteriza con frecuencia a la especies autóctonas mejor adaptadas, incluidas las denominadas hiperacumuladoras (Robinson *et al.*, 1997; Robinson *et al.*, 1998). Ver comentarios en el apartado 1.5 de la Introducción.

#### **5.7.1. La grama como bioindicadora**

Las plantas bioindicadoras son aquellas capaces de absorber y acumular metales (y metaloides) a través de mecanismos de quelación, localización o inactivación química, reduciendo así los efectos tóxicos de estas sustancias; estas especies son apropiadas para la bioindicación, ya que reflejan en su concentración la concentración ambiental disponible para las plantas (Bargagli, 1998).

Las mejores correlaciones suelo-grama obtenidas en los tres años de estudio correspondieron a los elementos Cd, Zn y As (Tabla 5.13). También se obtuvieron correlaciones significativas en algunos años para los elementos Pb, Mn y Cu. En ningún caso se obtuvieron correlaciones significativas para Fe y Ni. (Tabla 5.13).

Las mejores correlaciones obtenidas para Cd y Zn pueden radicar en la facilidad con que ambos elementos son absorbidos por la planta, y una vez absorbidos transportados a la parte aérea (Kabata-Pendias y Pendias, 1992; Thornton, 1995). Los resultados presentados parecen sugerir que parte del Cd y Zn absorbido por la grama puede ser transportado hacia la parte aérea, manteniendo una correlación positiva y significativa con la fracción potencialmente disponible en el suelo.

**Tabla 5.13.** Coeficientes de correlación obtenidos entre las concentraciones de elementos traza en el suelo (fracción extraíble con EDTA) y la planta. Para 1999 n = 18; 2000 n = 15 y en 2001 n = 27. En los años 2000 y 2001 la correlación se ha hecho tomando logaritmos.

Año	As	Pb	Cd	Zn	Fe	Mn	Cu	Ni
1999	0,839**	0,627*	0,923**	0,845**	-	0,755**	n.s.	n.s.
2000	0,627**	n.s.	0,727**	0,699**	n.s.	0,579*	n.s.	n.s.
2001	0,654**	0,560*	0,560**	0,807**	n.s.	n.s.	0,654**	n.s.

\*\*p<0,01 ; \*p<0,05.

Las correlaciones significativas de As obtenidas en los tres años de estudio, pueden ser debidas en parte a la propia planta, ya que esta especie es capaz de absorber cantidades altas de este elemento (Smith *et al.*, 1998). Estos resultados han sido también obtenidos para otras *poaceas* (Bech *et al.*, 1997).

En el caso del Pb, elemento retenido principalmente en la raíz una vez que ha sido absorbido, se han obtenido correlaciones razonablemente altas. Al margen de que parte de la fracción absorbida haya podido ser transportada a la parte aérea, en el caso de este elemento es especialmente importante la contaminación externa del suelo (Thornton, 1995), circunstancia que podría haber potenciado en cierta medida la absorción foliar.

El hecho de que las mejores correlaciones de As y Pb se hayan obtenido en el primer año, podrían estar explicada, parcialmente al menos, en el que la contaminación con polvo fue más intensa en ese año; además, la mayor humectación del suelo derivada de las copiosas lluvias de octubre del año 1999 (Tabla 5.10) pudo favorecer la movilidad de ambos metales en el suelo en aquel año.

Los coeficientes de correlación obtenidos para Pb, Mn y Cu (que no resultaron significativos en todos los años de estudio) pusieron de manifiesto que este tipo de correlaciones pueden estar muy condicionadas por innumerables variables edafo-climáticas, y de la propia planta, no controladas en su mayor parte. La correlación obtenida dependerá de las condiciones del suelo y de la planta existentes en cada momento.

En este sentido conviene recordar que las muestras de suelo tomadas cada año no procedían de sitios idénticos (al variar la ubicación de la grama). Las

muestras tomadas en el segundo año (2000) en algunos de los suelos afectados, alcanzaron picos de concentración de diversos elementos traza potencialmente biodisponibles (extraídos con EDTA), mientras que la planta por el contrario registró un patrón de comportamiento opuesto (ver apartado 5.4).

Bargagli (1998), Thornton (1995) y otros autores han resaltado la notable influencia que pueden tener las fluctuaciones estacionales en el contenido de metales en una planta (aspecto no recogido en la presente memoria: Madejón *et al.*, 2001). Los resultados aquí presentados resaltan la importancia que puede tener también las variaciones anuales para un programa de monitorización. Por último, la conveniencia de referir concentraciones *potencialmente* biodisponibles en suelo, al depender éstas de las condiciones generales existentes "in situ" en el mismo.

En vista de los resultados obtenidos, se puede decir que la grama es buena bioindicadora de As, Cd y Zn, al menos bajo nuestras condiciones de estudio. Para elementos como Pb, Mn y Cu no se puede confirmar ni que sea bioindicadora, habría que seguir estudiando la relación suelo-planta para estos tres elementos.

Otros de los resultados claros de este estudio, es que la grama no parece ser buena bioindicadora de la concentración de Fe y Ni disponible en el suelo.

#### **5.7.2. La grama como fitoestabilizadora**

Partiendo de la base de que la grama es una planta capaz de tolerar la presencia de As y otros elementos traza en el suelo (Smith *et al.*, 1998; Wong *et al.*, 2002), además de tratarse de una especie ampliamente arraigada en la cuenca del Guadiamar, se han obtenido algunos datos, preliminares, sobre su capacidad como fitoestabilizadora.

La fitoestabilización se basa en la "fijación" de elementos traza en el sistema radical de la planta, donde permanece más o menos estable. Implicaría pues, una razonable tolerancia de los tejidos radicales a concentraciones altas de elementos traza y un transporte limitado hacia la parte aérea, donde resulta más problemático para la red trófica.

Las muestras de grama seleccionadas para este estudio proceden del suelo de referencia SO (calcáreo), del suelo afectado de AZ (calcáreo) y del suelo afectado de la margen derecha de SO (ácido, aunque sus primeros 15 cm tengan un pH próximo a 7 debido a las enmiendas aplicadas).

**Tabla 5.14.** Concentración de elementos traza en parte aérea (A), raíz (R) de la grama ( $\text{mg kg}^{-1}$ , peso seco) y razón (R/A) para cada elemento. Muestreo realizado en el año 2000. C-1 y C-2 (puntos de referencia de SO); A-1 y A-2 (puntos afectados de AZ) y A-3 (punto afectado de SO-L).

Punto	As			Pb			Ti		
	A	R	R/A	A	R	R/A	A	R	R/A
C-1	0,16	0,41	2,5	0,68	1,1	1,6	0,004	0,011	2,7
C-2	0,16	0,71	4,3	0,82	1,6	2,0	0,006	0,014	2,6
A-1	0,67	4,10	6,1	1,80	9,70	5,4	0,022	0,085	3,8
A-2	0,88	10,3	11,7	1,80	6,9	3,8	0,023	0,054	2,4
A-3	4,52	5,11	1,1	9,8	10,6	1,1	0,046	0,062	1,3

Punto	Cd			Zn			Cu		
	A	R	R/A	A	R	R/A	A	R	R/A
C-1	0,010	0,045	4,5	31,9	23,4	<1	4,11	7,40	1,8
C-2	0,004	0,037	10,2	23,2	40,1	1,7	3,51	7,00	2,0
A-1	0,045	0,67	14,9	71,2	84,4	1,2	4,25	15,3	3,6
A-2	0,023	1,38	59,7	82,2	79,6	1	5,97	31,8	5,3
A-3	0,128	0,44	3,4	68,2	110	1,6	8,79	20,4	2,3

Punto	Fe			Mn			Ni		
	A	R	R/A	A	R	R/A	A	R	R/A
C-1	233	894	3,8	59,5	34,2	<1	3,58	2,16	<1
C-2	281	974	3,5	94,6	30,6	<1	3,03	3,56	1,2
A-1	216	1150	5,3	61,6	47,4	<1	1,73	2,62	1,5
A-2	275	2030	7,4	131	73,3	<1	1,92	2,51	1,3
A-3	1010	1280	1,3	127	130	1	4,28	2,92	<1

Para los elementos Mn, Ni y en menor medida para Zn, la razón R/A (concentración en raíz / concentración en la parte aérea) oscila alrededor de 1 (<1 a 1,7), indicando una capacidad de transporte hacia la parte aérea razonablemente alta (Tabla 5.14). Para los restantes elementos traza la razón es superior a 1 (especialmente en los suelos afectados), indicando su acumulación preferencial en la raíz, excepto en el caso de las muestras tomadas sobre suelo ácido, en la que se observó una fuerte acumulación de elementos traza en la parte aérea.

Como indican Barman *et al.* (2000), el patrón de absorción y acumulación de elementos traza es muy heterogéneo, lo que supone grandes problemas a la hora de elegir especies adecuadas para la revegetación de zonas contaminadas. Aunque en nuestro caso se trata sólo de resultados preliminares, ya que parecen sugerir

que incluso dentro de una misma especie puede variar consistentemente este patrón en función de las condiciones del medio.

Las muestras sobre suelo afectado, pero calcáreo, muestran una consistente acumulación radical de As, Pb y sobre todo Cd, aspectos positivos para la utilización de la grama como planta fitoestabilizadora. La concentración de estos tres elementos en la parte aérea son totalmente inocuas para la nutrición de herbívoros.

Todavía es necesario disponer de un número mayor de datos para emitir conclusiones definitivas, aunque resulta esperanzador poder comprobar que para Pb, Zn y Cu, Shu *et al.* (2002) obtuvieron resultados razonablemente similares. De acuerdo con lo obtenido, la grama puede ser válida para estabilizar la contaminación en los suelos de As, Pb, Tl, Cd, Cu y Fe, siempre y cuando el suelo no sea ácido. Por el contrario, al disminuir el pH la grama tiende a acumular los elementos traza en la parte aérea.

### **5.7.3. La grama como fitoextractora**

La fitoextracción, conocida también con el nombre de fitoacumulación, es una técnica que consiste en el uso de plantas superiores para eliminar contaminantes inorgánicos, principalmente metales, de suelos contaminados (Lasat, 2002). Este proceso implica la absorción de metales pesados y As por las raíces y transporte hasta la parte aérea, fracción donde debe ser acumulado el elemento (Wong, 2003). Para que una planta se considere como buena fitoextractora debe tener las siguientes características (Vangronsveld *et al.*, 2000):

- Debe acumular preferentemente el metal en la parte aérea.
- Sus tejidos aéreos deben tolerar concentraciones altas del metal en cuestión.
- Debe tener un crecimiento rápido, y conseguir una biomasa elevada.
- Debe ser fácil de cosechar.

Cuando se analizan las cantidades extraídas por la parte aérea de la grama (Tabla 5.15) se comprueba que, aún dentro de la gran variabilidad que presentan, son cantidades muy moderadas en todos los casos. Para estos cálculos se han utilizado los datos de muestras descontaminadas, cuyas concentraciones son más bajas, aunque los valores tan moderados de extracción obtenidos se deben básicamente, a que la biomasa de esta planta es comparativamente baja.

Aunque Barman *et al.* (2000) consideran que la grama puede ser considerada como planta hiperacumuladora de Fe, tampoco se han observado extracciones muy altas para este elemento (Tabla 5.15), que además no resulta problemático para cadenas tróficas terrestres.

**Tabla 5.15.** Estimaciones de la extracción de metales de la grama a la parte aérea ( $\text{g ha}^{-1}$ )

Punto	As	Pb	Tl	Cd	Zn	Cu	Fe
GE	0,58	0,68	$7 \cdot 10^{-3}$	0,053	56,7	9,6	461
SO	0,12	0,38	$6 \cdot 10^{-3}$	0,019	23,2	7,8	235
R.HU	0,70	1,65	$2 \cdot 10^{-3}$	0,034	61,6	22,0	240
<b>LA</b>	0,29	0,70	$8 \cdot 10^{-3}$	0,05	53,2	10,4	347
<b>AZ</b>	2,40	5,20	$5,5 \cdot 10^{-2}$	1,50	250	36,1	1666
<b>TI</b>	5,00	8,60	0,09	1,10	323	49,3	1757
<b>DO</b>	6,60	8,90	0,18	4,90	583	42,1	2688
<b>QU</b>	6,60	11,2	0,20	7,90	1003	85,0	4223
<b>SO-L</b>	3,80	6,25	0,34	4,50	427	26,7	1339

La grama efectivamente, puede acumular enormes cantidades de Fe en sus tejidos; Madejón *et al.* (2002) registraron concentraciones próximas a  $4000 \text{ mg kg}^{-1}$  sobre la parcela de lodos, lo que permite considerarla como hiperacumuladora (concentración del elemento al menos 100 veces más alta que su concentración normal en plantas). Pero aún así, no podría considerarse útil como planta fiextractora, debido a la escasa biomasa producida.

Debido a esta circunstancia, sería necesario realizar un número ingente de cosechas de grama para la retirada total (e incluso de una pequeña parte) de los elementos traza todavía presentes en el suelo (Tabla 5.16). Incluso en el caso del Fe, el número de cosechas necesarias sería superior a 10000 en la mayoría de los casos (Tabla 5.17).

**Tabla 5.16.** Cantidad de algunos elementos en los suelos del Guadamar ( $\text{g ha}^{-1}$ )

Punto	As	Pb	Zn	Fe
LA	163000	277500	506250	94900
AZ	412500	697500	1864000	97000
TI	487500	487500	2540000	129000
DO	750000	814000	2929000	130000
QU	1387500	2430000	2471000	176000
SO-L	588750	877500	1676000	179000



Podría argumentarse que la fertilización, junto con la aplicación de determinados compuestos que potencien la absorción de elementos traza por la planta (agentes complejantes, ácido cítrico) podría aumentar considerablemente su extracción (Lasat, 2002). Al margen de la todavía dudosa viabilidad medioambiental de esta técnica, no creemos que se trate de una solución válida para un período de tiempo razonablemente corto y extensas zonas de terreno.

En resumen, los datos obtenidos evidenciarían una excelente tolerancia de la especie a la contaminación todavía existente en la cuenca del Guadiamar, aunque insuficiente para poderla considerar como una herramienta útil para la fitoextracción. Su utilidad podría radicar en su uso potencial como planta bioindicadora, además de ser una planta excelente para la estabilización de suelo.

**Tabla 5.17.** Cantidad de cosechas de grama que serían necesarias para eliminar la contaminación producida por el vertido (para los cálculos se han tenido en cuenta las cantidades de metales presentes en el suelo que no proceden del vertido).

Zona	As	Pb	Zn	Fe
LA	481.000	333.000	7.000	74.000
AZ	162.000	125.000	6.900	17.000
TI	93.000	52.000	7.500	35.000
DO	110.000	86.000	4.800	23.000
QU	207.000	213.000	2.300	26.000
SO-L	149.000	133.000	3.600	83.000

Por otra parte, las concentraciones de elementos traza en su parte aérea empiezan a no resultar preocupantes en los suelos remediados, pudiendo así formar parte de la dieta de herbívoros salvajes sin mayores problemas. Sólo el Cd según se ha indicado, requiere todavía una atención especial.

## 5.8. CONCLUSIONES

### *Variabilidad espacial de los suelos*

A pesar de la inmediata limpieza de los suelos que se llevó a cabo tras el accidente minero de Aznalcóllar, el nivel de contaminación por elementos traza de los suelos afectados (tres años después del vertido) seguía siendo alto, muy

superior al de los suelos no afectados, esto es, muy por encima de los valores normales, concentraciones de fondo, que caracterizan a estos suelos.

Aunque en su mayoría las zonas afectadas resultaron accesibles para las labores de limpieza de los suelos, algunos de los sitios más próximos al cauce, y algunas zonas especialmente complicadas, como las Doblas y Quema, fueron muy difíciles de limpiar, por lo que su nivel de contaminación es muy alto (el mismo, prácticamente, que inmediatamente después del vertido).

No siempre existió relación entre los contenidos totales y disponibles de elementos traza, en los suelos afectados, por lo que resulta imprescindible determinar esta última fracción para conocer la incidencia real que puede tener el nivel de contaminación de un suelo sobre la red trófica. La discrepancia más clara entre elementos totales y disponibles se dio en SO-L. Existe una tendencia de variación conjunta para los elementos As, Cd, Cu, Pb y Zn, tanto en totales como disponibles. En cambio la variabilidad en Mn, Ni y Fe (disponible) es diferente y parece estar asociada a características estructurales de los suelos.

#### *Variabilidad espacial de la contaminación en plantas*

Las concentraciones de N y K en la grama son menores en los puntos afectados que en las que crecen en los suelos de referencia. Las concentraciones de P en la planta parecen que no se han visto afectadas por la presencia de elementos traza en el suelo.

Las concentraciones de Ca y S siguen siendo mayores en las gramas de los puntos afectados, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Con el Mg sucede lo mismo que para Ca y S, aunque las diferencias no son tan llamativas.

En los suelos de difícil acceso para su limpieza, las concentraciones de As, Pb, Cd, Tl y Ni en la grama fueron estadísticamente mayores que las existentes en los puntos de referencia y de los que han sido limpiados y enmendados. Las concentraciones de Cu y Mn fueron estadísticamente mayores con respecto a las plantas que crecen en los suelos de referencia, pero no difieren de las de los suelos que han sido limpiados y enmendados.

Fe y Zn no mostraron diferencias significativas entre las gramas que crecen en los distintos tipos de suelo; esto es debido a la dispersión de las concentraciones obtenidas, lo que refleja la heterogeneidad de la contaminación de

las zona contaminadas. A pesar de esto, en el caso del Zn, son mucho mayores las concentraciones de Zn en los puntos afectados que en los de referencia. Estos resultados reflejan la eficacia de la limpieza de los suelos afectados.

Existe diferencia de acumulación de elementos traza entre las fracciones verdes y secas de la planta, siendo mayor la acumulación en la fracción seca en el orden: As > Pb > Tl > Fe > Ni. Para el resto de elementos estudiados (Cd, Zn, Cu y Mn), las diferencias son muy pocas y sólo puntuales.

#### *Variaciones interanuales:*

*Suelos:* en el año 2000 las concentraciones de As, Cd, Cu, Pb y Zn tienden a aumentar, bajando en el último año de estudio (2001).

*Nutrientes:* en general, tienen el mismo patrón de evolución en los 3 años de estudio tanto en las gramas de los suelos afectados como las usadas de referencia; esto hace suponer que las subidas y bajadas de concentración de los nutrientes se deben principalmente a variables edafo-climáticas del medio. A pesar de todo, la presencia de elementos traza está afectando algo a la nutrición de la planta, ya que a lo largo de todo el estudio las concentraciones de N, P y K son inferiores en los puntos afectados, y las concentraciones de Ca, Mg y S siguen siendo mayores respecto a las muestras de referencia. Así se puede decir que los elementos traza en suelo "disminuyen" la absorción de N y K (el P menor proporción), y "aumenta" la absorción de Ca (Mg en menor proporción).

*Elementos traza:* elementos como As y Pb parecen haberse estabilizado en cuanto a disponibilidad en el suelo, y también en la planta, alcanzando concentraciones en las gramas afectadas muy similares a la de las usadas de referencia. Cd, Zn y Tl, e incluso Cu, Fe y Ni, también parecen haberse estabilizado en zonas que han sido limpiadas y enmendadas. En los puntos de difícil acceso para su limpieza, como Doblas, siguen detectándose concentraciones elevadas, incluso para el Cd, Zn, Ni y Mn; en el tercer año de estudio se obtuvieron las concentraciones más altas de estos elementos.

#### *Implicaciones para la restauración ecológica*

Con respecto al posible efecto de estos elementos en la cadena trófica, los resultados obtenidos para la grama, parecen indicar que la problemática potencial

que podrían generar metales tan tóxicos como As y Pb parece haberse normalizado en los suelos afectados; una vez superado el problema que presenta para la red trófica terrestre la contaminación con suelo, sería otro metal, el Cd, el elemento que por su ubicuidad, toxicidad y mayor propensión a ser magnificado requeriría una monitorización más amplia y específica.

En resumen, los datos obtenidos evidencian una buena tolerancia de la especie a la contaminación todavía existente en la cuenca del Guadiamar, aunque la bioacumulación es insuficiente para poderla considerar como una herramienta útil para la fitoextracción. Su utilidad podría radicar en su uso potencial como planta bioindicadora de As, Cd y Zn, además de ser una planta apropiada para la estabilización de suelos contaminados.

## **6. PLANTAS COMO BIOINDICADORES DE LA CONTAMINACIÓN POR ELEMENTOS TRAZA**

### **6.1. INTRODUCCIÓN**

Numerosos trabajos han demostrado que los árboles que crecen en suelos contaminados con elementos traza pueden alcanzar contenidos altos de estos elementos en hojas y tallos (Kozlov *et al.*, 1995; Bönh *et al.*, 1998; Hrdlicka y Kula, 1998; Dickinson, 2000; Gratton *et al.*, 2000). En los últimos años se ha incrementado el número de estudios realizados con distintas especies de árboles, que cubren un amplio rango geográfico y de hábitat, con objeto de analizar la bioacumulación de elementos traza en hojas y tallos. Todos estos estudios prestan especial atención a su absorción por la raíz, así como a su translocación y acumulación en las partes aéreas (Sawidis *et al.*, 1995, Stratis *et al.*, 1996), incluyendo su posible uso como biomonitores de contaminación aérea y del suelo (Al- Shayeb *et al.*, 1995; Dmuchowski y Bytnerowicz, 1995; Aksoy y Öztürk, 1996; Rautio *et al.*, 2003).

Dentro de este contexto, las especies de los géneros *Salix* y *Populus* (Salicáceas) han sido las más estudiadas, por su capacidad para transportar y acumular metales en hojas y por la rapidez de su crecimiento. El álamo blanco (*Populus alba* L.) está presente a lo largo de toda la cuenca del río Guadiamar, formando parte del bosque de ribera, siendo uno de los árboles más representativo. Se trata de una especie que debe tener características fisiológicas que le permiten soportar las condiciones poco favorables, derivadas de la contaminación residual por metales originada por el vertido. Por ello se ha seleccionado como especie adecuada para estudiar el patrón de acumulación espacio-temporal de elementos traza en las hojas (se trata de un árbol caducifolio).

Este capítulo se ha centrado en el estudio de los niveles de elementos traza en hojas y tallos del álamo blanco, a lo largo de tres años (1999-2001) y su relación con la contaminación de los suelos, en función de los siguientes objetivos: 1) evaluar la acumulación de estos elementos en hojas y/o tallos de la planta; 2) analizar la evolución temporal de la acumulación; 3) comprobar si la acumulación de elementos traza interfiere sobre los niveles de nutrientes básicos de la planta; 4) relacionar los niveles de elementos traza en las hojas y tallos con la contaminación de los suelos y 5) evaluar la capacidad de esta especie para ser utilizada como bioindicadora de la contaminación.

## **6.2. ESPECIE DE ESTUDIO**

El álamo blanco (*Populus alba* L.) pertenece a la familia de las Salicáceas, es un árbol caducifolio, de hasta 30-35 m de altura y 3 m de diámetro en la base del tronco. Posee un sistema radical fuerte, muy ramificado. Tronco grueso, elevado, derecho o flexuoso; corteza lisa, blanco grisácea en los jóvenes, resquebrajándose longitudinalmente en los adultos, al menos en la parte baja. Copa ancha, irregular, cónica o redondeada. Ramas extendidas, ramillas cilíndricas y brotes redondeados, tomentosos, delgados y elásticos. Yemas pequeñas, aovadocónicas, agudas, rojizas y lustrosas, una vez perdido el tomento inicial.

Sus hojas son tomentosas en las dos caras y pecíolo al desarrollarse, luego adquieren un color verde oscuro en el haz y blanco tomentoso o blanco lustroso en el envés. Pecíolo poco comprimido. El limbo es trinerviado en la base, subcoriáceo; las hojas más desarrolladas, dentado-angulosas o palmeado-lobuladas, generalmente acorazonadas en la base.

Su foliación ocurre en febrero, marzo o abril. Las hojas caen de noviembre a enero. Florece entre febrero y abril. El fruto es una cápsula ovoidea y lampiña. Los frutos son bivalvos y se abren soltando diminutas semillas algodonosas. La polinización es anemógama y la dispersión anemócora.

Se define como una especie de luz, que vive con bajo espaciamiento, sin formar extensos rodales. Da poca sombra, por la disposición de sus hojas. Es de crecimiento rápido, pero poco longevo; a partir de los 60-70 años el tronco se ahueca, iniciándose la decrepitud, y no suele alcanzar el siglo. Posee un gran valor ornamental, tanto por el aspecto de troncos y tallos como por lo cambiante de su follaje. Se puede emplear en jardines y parques, teniendo en cuenta que hay que

prevenir, o evitar, el efecto de sus raíces cundidoras, por lo que se debe estudiar bien el lugar de implantación. Hibrida bien con otros congéneres, especialmente con *P. tremula* (Ruiz de la Torre, 2001).

Es un árbol de ribera, indiferente al pH, que crece sobre suelos frescos y arenosos de valles húmedos y bajos, márgenes de grandes ríos y sotos abrigados; prefiere terrenos ricos, depósitos modernos fértiles e incluso arcillosos o arcilloso-calcareos frescos; los suelos silíceos compactos o calcáreos secos no le convienen.

Se encuentran en altitudes desde 0 a 1000 m, llegando incluso hasta los 2000 m. Puede soportar temperaturas mínimas de -15º, mientras que en verano resiste bien máximas entre 40º y 50º, con tal de tener asegurado el aprovisionamiento de agua. Parece soportar bien el ambiente marino, y cierta salinidad en el suelo y agua, así como cierto nivel de contaminación residual en el substrato (por ejemplo, por metales pesados y contaminantes orgánicos). En ríos de poca corriente y aguas eutróficas, calientes, con poco oxígeno y mucha arcilla en suspensión, en suma características desfavorables, sustituye a otras especies, por lo que está indicado para la repoblación o defensa de tales sitios (Ruiz de la Torre, 2001)

El álamo blanco forma parte de la vegetación natural del bosque de ribera de la cuenca del río Guadiamar (Cabezudo, 2003).

## 6.3. MUESTREO

### 6.3.1. Puntos de muestreo

En total se establecieron 10 puntos de muestreo, 9 de ellos situados en la cuenca del Guadiamar, y otro fuera de la misma, concretamente en la Rivera de Huelva. Este punto, alejado de la influencia minera, fue seleccionado como control de referencia externo a la cuenca (Fig. 6.1).

A continuación se describen los 10 puntos de muestreo (Tabla 6.1):

- *Puntos no afectados por el vertido (establecidos como referencia):*

1. **RIVERA DE HUELVA (RHU).** Situado en la Rivera de Huelva, afluente del Guadalquivir en la margen izquierda. De los cinco árboles seleccionados, dos estaban muy próximos al cauce, a una distancia máxima de unos 3 m. Los restantes estaban más alejados del río, a unos 15 m de distancia. Este punto de muestreo está muy próximo a una extensa plantación de naranjos.

2. **GERENA (GE).** Situado a unos 300 m del puente sobre el río Guadiamar a su paso por el término de Gerena, en la margen izquierda del río. Sus características

texturales (diferentes a los de los restantes puntos de muestreo), y nivel de contaminación residual ya fueron reflejados en el capítulo de la grama (apartado 5.2.1.). Tres de los árboles seleccionados estaban muy cercanos al cauce, y los dos restantes más alejados, a unos 25 m del mismo. Uno de los árboles se quemó durante el año 2000 y no pudo ser reemplazado por otro, por tanto quedaron 4 replicados para el segundo (2000) y tercer (2001) análisis.

- Puntos afectados por el vertido:

3. **SOBERBINA-suelo ácido (SO)**. Este punto está situado en la margen derecha del río Guadiamar, cuyos suelos de pH ácido, están influenciados por las características geológicas de las estribaciones de Sierra Morena (suelos de pizarra). Se trata del único punto con suelos ácidos, de todos los muestreados. Tres de los cinco árboles estaban en el mismo borde del cauce, y los dos restantes sólo a unos 2 m del mismo.

4. **SOBERBINA-suelo calcáreo (SI)**. Punto situado en la margen izquierda, justo en frente del anterior. En este caso, los suelos presentan pH básico, al estar influenciados por la terrazas calcareníticas del macizo mio-plioceno del Aljarafe, por cuyo pie discurre el río (Clemente *et al.*, 2000). El establecimiento de estos dos puntos (SO y SI) permite disponer de un entorno muy concreto con árboles sometidos a distinto pH, a la misma altura del curso del río. La distancia de los árboles respecto al río fue de unos 8 m para tres de ellos, 2 m para el cuarto y de unos 15 m para el último.

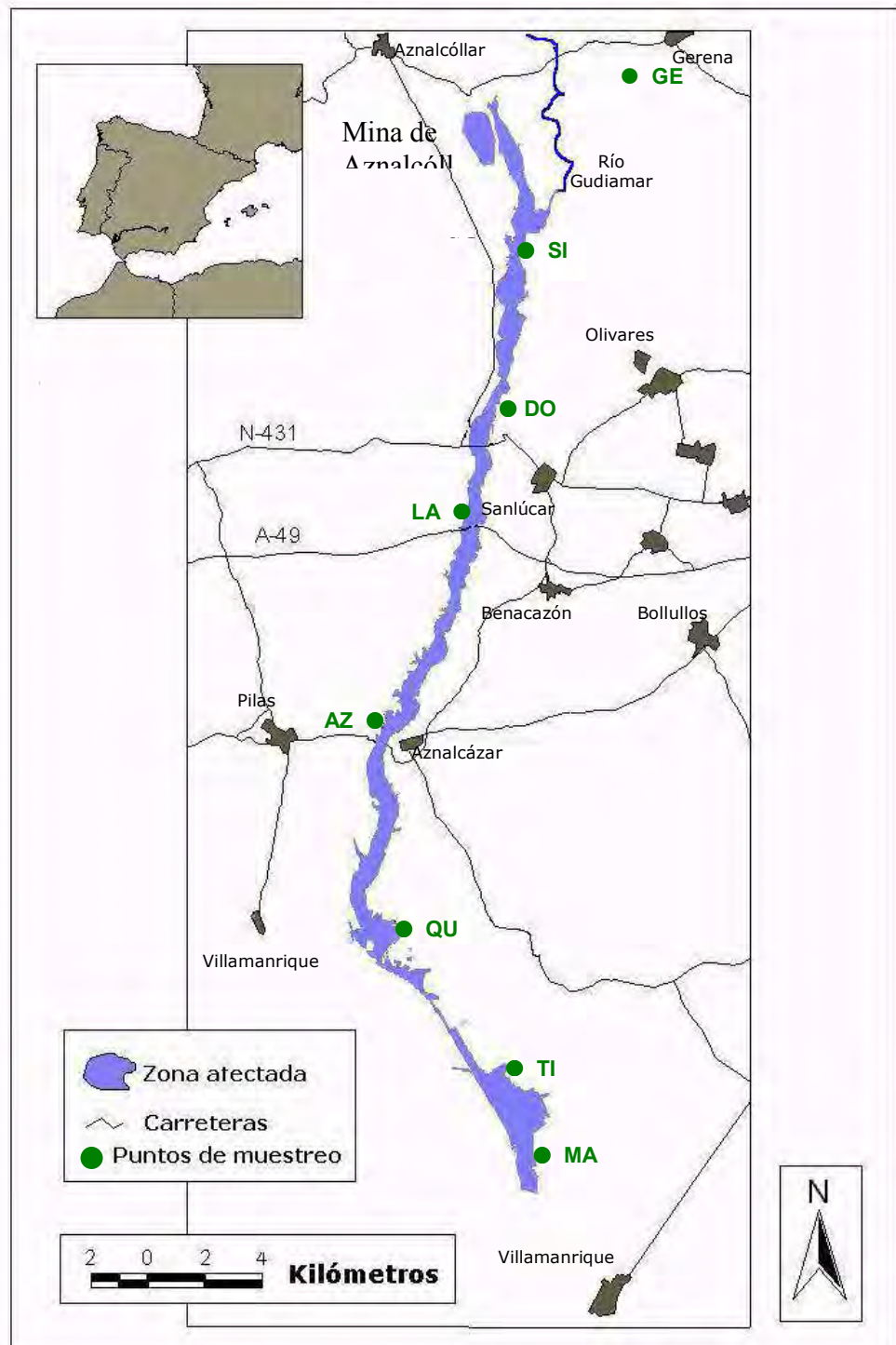
5. **DOBLAS (DO)**. Punto situado a unos 200 m del puente con el mismo nombre, en la carretera N-431, en la margen izquierda del río. Exceptuando uno de los árboles, situado a unos 30 m del cauce, los restantes están situados en el borde del mismo.

6. **LAGARES (LA)**. Punto situado a unos 50 m del puente del mismo nombre, en la autovía A-49, en la margen derecha del río. Todos los árboles estuvieron situados junto a un cauce secundario del río (distancias inferiores al metro).

7. **AZNALCÁZAR (AZ)**. Punto situado a unos 50 m del puente sobre el río, en la margen derecha, a su paso por Aznalcázar. Salvo uno de los árboles situado a 5 m del cauce, los restantes estaban a menos de 1 m del río.

8. **VADO DEL QUEMA (QU)**. Punto situado a unos 100 m del vado del Quema, en la margen izquierda del río. Los árboles seleccionados estaban situados sobre un talud (unos 2 m por encima del suelo y a unos 5 m por encima del nivel del río). Tres de los árboles distan unos 2 m del río, mientras que los restantes estaban algo más alejados, a unos 8 m.





9. **LA TIESA (TI)**. Punto cercano a las Marismas del Guadalquivir y situado en la finca del mismo nombre, en la margen derecha del Guadamar. Salvo un árbol situado a unos 6 m del cauce, los restantes están próximos al río (a unos 2 m como máximo)

10. **MARISMA (MA)**. Punto situado a unos 500 m del anterior, en la margen derecha. Se trata de un enclave en el que sólo había tres árboles, justo en el borde del cauce del río.

En el primer año (1999), se muestrearon los puntos: GE (como referencia), SO, DO, LA, AZ y QU. En los dos años siguientes (2000 y 2001) se muestrearon los 10 puntos establecidos.

### **6.3.2. Descripción del muestreo**

La toma de hojas y tallos de álamo blanco se realizó durante el otoño de los años 1999, 2000 y 2001, justo antes de la caída de las hojas. Los puntos de muestreo se establecieron a lo largo de la cuenca de río Guadamar, en la misma orilla del río siempre que fue posible. Se intentó que fueran zonas fácilmente accesibles donde, como mínimo, hubiera 5 árboles por punto.

En cada uno de los puntos de muestreo fueron seleccionados cinco árboles (menos en MA, sólo tres), marcados inicialmente, para su identificación en posteriores muestreos, mediante una chapa metálica con el código asignado a cada álamo. En cada caso se estimó la altura del árbol, perímetro del tronco a la altura del pecho, así como la distancia al cauce y a los árboles seleccionados más próximos (Tabla 6.1). Todos estos datos pueden facilitar la identificación de cada árbol en un momento dado.

Las muestras de hojas y tallos fueron tomadas a una altura de 4 a 5 m desde el suelo, mediante un sistema de poda extensible. Siempre que fue posible las muestras se tomaron en dirección suroeste. De cada árbol se tomaron varias ramas completas. Una vez en el laboratorio los tallos fueron separados de las hojas, seleccionándose tallos de diámetro inferior a 1,5 cm para su análisis. Sus hojas fueron seleccionadas procurando que estuvieran en buen estado y tuvieran un tamaño medio (evitando las más grandes y las más pequeñas). En cada uno de los árboles se tomó la muestra de suelo correspondiente a profundidades de 0-25 cm y 25-40 cm mediante barrena de caña. En cada caso se obtuvo una muestra compuesta a partir de tres tomas alrededor del tronco del árbol (la metodología analítica correspondiente se indica en el capítulo 4).



## 6.4. SUELOS: CARACTERÍSTICAS GENERALES Y NIVEL DE CONTAMINACIÓN

### 6.4.1. Características generales

#### Textura

En general los suelos de la cuenca tienen distintas texturas: franco arenosas, francas (en su mayoría), franco arcillosas y también arcillosas (punto SI). La excepción a este comportamiento general aparece en Gerena, cuyos suelos son muy arenosos; el otro punto de referencia (RHU) tiene características texturales algo más similares a las encontradas en la cuenca del Guadiamar (Tabla 6.2).

**Tabla 6.2.** Textura de los suelos de los distintos puntos de muestreo del álamo blanco. Valores medios de cinco repeticiones por profundidad.

Punto	Prof.	Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)	Textura
RHU	0 – 25	3,30	29,3	67,4	Arcillosa
	25 - 40	11,2	29,3	59,5	Arcillosa
GE	0 – 25	78,3	13,1	8,60	Arena franca
	25 - 40	74,4	15,5	10,1	Arena franca
SO	0 – 25	63,4	24,5	12,1	Franco arenosa
	25 - 40	69,2	20,4	10,4	Franco arenosa
SI	0 – 25	16,7	30,0	53,3	Arcillosa
	25 - 40	23,3	29,4	47,3	Arcillosa
DO	0 – 25	19,6	49,1	31,3	Franco arcillosa
	25 - 40	25,0	43,2	31,8	Franco arcillosa
LA	0 – 25	36,3	37,8	25,9	Franca
	25 - 40	37,9	37,5	24,6	Franca
AZ	0 – 25	51,7	30,5	17,8	Franca
	25 - 40	43,2	34,6	22,2	Franca
QU	0 – 25	56,0	30,6	13,4	Franco arenosa
	25 - 40	48,5	34,6	16,9	Franca
TI	0 – 25	32,5	44,1	23,4	Franca
	25 - 40	21,7	50,0	28,3	Franco arcillosa
MA	0 – 25	29,2	42,1	28,7	Franco arcillosa
	25 - 40	25,5	43,3	31,2	Franco arcillosa

### *pH y contenido en $\text{CaCO}_3$*

El pH de los suelos estuvo comprendido en un intervalo de 7 a 8 (Tabla 6.3); excepto los del punto SO. Se trata por tanto de suelos neutros (hasta pH 7,5) y alcalinos (pH 7,6-8,5; JE-MP, 1992). Los suelos del punto SO, situado en la margen derecha del río, bajo la influencia de las estribaciones de Sierra Morena, tuvieron un pH ácido (muy ácido según la clasificación de JE-MP, 1992). En general, no se apreciaron diferencias importantes de pH entre las dos profundidades, para cada punto.

Los pH de los puntos de la cuenca afectados por el vertido, desde SI hasta MA, resultaron algo más bajos que los registrados en los puntos de referencia, en especial RHU (Tabla 6.3). La aparición de un pH ligeramente inferior en estos puntos no se corresponde con los contenidos de  $\text{CaCO}_3$ , muy superiores a los registrados en los puntos de referencia, donde nunca fueron superiores al 2 % (Tabla 6.3).

Durante la toma de muestras ya había comenzado la aplicación de enmiendas orgánicas y calcáreas (CMA, 2001). Sin embargo, su influencia sobre la mayoría de los árboles estudiados debió de ser muy baja, si es que tuvo alguna, dada la situación de los mismos, muy cercanos al cauce (lo que dificultó por otra parte tanto la limpieza como la aplicación de enmiendas). Por tanto, la diferencia de carbonatos entre los puntos afectados y no afectados no parece estar causada por la aplicación de enmiendas.

La aparente anomalía entre el pH de los puntos afectados (comparativamente bajos) y el contenido en carbonatos (comparativamente altos) podría explicarse atendiendo a que la composición de un suelo no es uniforme sino que presenta un patrón "caleidoscópico" (como lo definió en su día Boyko, 1966). Este patrón deriva de la existencia de múltiples "micronichos" donde la concentración de muchos de sus componentes pueden variar notablemente.

En determinados "micronichos", la oxidación total o parcial del lodo residual podría estar ocasionando bajadas sustanciales de pH, de forma que la resultante total (pH medio) coincidiría con valores más bajos que los que se habrían obtenido en condiciones normales (ausencia de lodo). En condiciones extremas (generalización del proceso), el pH del suelo podría ser muy bajo.

Por ejemplo, en el punto SI, situado en la margen izquierda calcárea del Guadiamar, el promedio de cuatro árboles presentó una textura arcillosa, un pH próximo a 7,5 y un contenido de  $\text{CaCO}_3$  próximo a 7 % (Tabla 6.3). Sin embargo, el suelo del árbol 3, tiene textura arcillosa, pero presentó un pH muy bajo, de 3,5, y 0,9 %  $\text{CaCO}_3$  en la profundidad de 0-25 cm y pH todavía más ácido, de 2,4 y 1 % de  $\text{CaCO}_3$  en la de 25-40 cm.

**Tabla 6.3.** pH, contenido en  $\text{CaCO}_3$  y concentración de nutrientes en los suelos estudiados (valores medios sobre suelo seco; n = 5, excepto para el punto SI, n = 4 y para el punto MA, n = 3).

Punto	Prof.	pH	$\text{CaCO}_3$ (%)	N (%)	P ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	K ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
RHU	0 - 25	8,0	2,0	0,10	12,5	115
	25 - 40	7,9	1,2	0,05	8,7	65
GE	0 - 25	7,9	1,7	0,08	12,0	93
	25 - 40	7,7	1,6	0,06	7,3	70
SO	0 - 25	5,4	<0,5	0,14	5,8	104
	25 - 40	5,0	<0,5	0,08	19,0	65
SI	0 - 25	7,4	10,6	0,09	8,5	128
	25 - 40	7,5	8,2	0,08	8,2	111
DO	0 - 25	7,3	19,0	0,16	13,1	300
	25 - 40	7,4	18,0	0,13	10,0	242
LA	0 - 25	7,5	11,5	0,13	13,0	173
	25 - 40	7,5	9,3	0,11	10,5	137
AZ	0 - 25	7,1	8,0	0,17	20,0	116
	25 - 40	7,3	8,2	0,14	11,0	128
QU	0 - 25	7,2	8,6	0,09	20,0	126
	25 - 40	7,4	12,0	0,09	14,5	157
TI	0 - 25	7,6	11	0,09	12,0	149
	25 - 40	7,6	9,0	0,10	15,0	169
MA	0 - 25	7,2	10,4	0,10	26,0	168
	25 - 40	7,4	8,6	0,09	17,0	127

Las características texturales parecen demostrar que este suelo no era diferente de los restantes muestreados en el punto SI. Una posible explicación es que las diferencias de pH y  $\text{CaCO}_3$  fueron ocasionadas por una oxidación generalizada de S del lodo residual presente en el mismo, cuya concentración también resultó mayor. Por esta razón, el suelo del árbol nº3 no se ha incluido en los valores medios de suelo en el punto SI.

#### *Contenidos en nutrientes*

Las concentraciones de N para todos los puntos oscilaron en un intervalo de 0,08 a 0,17 % en la profundidad de 0-25 cm y 0,06 a 0,14 % en la profundidad de 25-40 cm (Tabla 6.3). Según la clasificación de suelos agrícolas (JE-MP, 1992), los contenidos de N de los suelos de los puntos de referencia (RHU y GE), así como los de los puntos afectados por el vertido Soberbina (SI), Quema (QU), Marisma (MA) y Tiesa (TI) serían bajos. Sólo los puntos de Doblas (DO), Lagares (LA), Aznalcázar (AZ), y en menor medida Soberbina (SO), presentaron contenidos que podrían considerarse normales en suelos.

Atendiendo a las características texturales, las concentraciones de P resultaron normales en los suelos de los puntos de Gerena (GE), Soberbina (SO), (profundidad de 25-40 cm), AZ, QU, MA y TI, pero bajas en los puntos RHU, SI, Doblas (DO) y Lagares (LA). Para suelos arcillosos se considera normal un intervalo de 9-12 mg kg<sup>-1</sup> de P (método Olsen), 13-18 mg kg<sup>-1</sup> para suelos francos y 17-24 mg kg<sup>-1</sup> para los suelos arcillosos (JE-MP, 1992).

Para el K se considera normal un intervalo de 121-176 mg kg<sup>-1</sup> para suelos arenosos, 160-244 mg kg<sup>-1</sup> para suelos francos y de 199-293 mg kg<sup>-1</sup> para suelos arcillosos (JE-MP, 1992). En función de esta clasificación, sólo los suelos de Doblas (DO) tendrían un contenido adecuado de K; el resto de los puntos afectados tendrían contenidos por debajo de los considerados normales en suelos (Tabla 6.3).

En conjunto, los resultados obtenidos parecen mostrar que el vertido no influyó sobre las concentraciones de N total, y de P y K disponibles. En general la fertilidad de los suelos estudiados puede calificarse de moderada, e incluso baja en puntos como Rivera de Huelva (RHU) y Soberbina margen izquierda (SI). De los puntos estudiados DO, LA, AZ, y en menor medida QU y MA presentaron unas condiciones de fertilidad ligeramente superiores a las de los puntos restantes.

#### **6.4.2. Nivel de contaminación de los suelos: concentraciones totales**

Según se ha indicado anteriormente, la limpieza de los suelos no se realizó con la misma eficacia en todas las zonas afectadas. La concentración de lodo en los suelos que rodean los árboles situados en el propio borde del cauce del río, o

muy próximo al mismo, era todavía considerable (en el año 2001). Ello se debió a la dificultad que tuvieron las máquinas de limpieza para acceder a estos sitios. Según se ha descrito antes, de los 38 árboles afectados, 28 estuvieron a menos de 2 m de distancia del cauce. En los restantes, la proximidad de otros árboles (y arbustos) debieron dificultar las labores de limpieza.

#### *Concentración de Azufre*

En general, existió una diferencia significativa para el S según el punto de muestreo (Tabla 6.4). Las concentraciones de S fueron muy altas en los puntos afectados por el vertido, siendo en todos los casos significativamente mayores que las obtenidas en el punto control de GE (Tabla 6.4). Con la excepciones, en algunos puntos y profundidad, debido a la variabilidad de la concentración obtenida en estos suelos.

En la mayoría de los casos, la concentración de S fue algo mayor en superficie (0-25 cm) que en profundidad (25-40 cm); salvo en los puntos más próximos a las marismas (Tabla 6.4). Con frecuencia, los niveles de S fueron más altos que el límite superior del intervalo considerado normal en suelos ( $1600 \text{ mg kg}^{-1}$ ), y por supuesto mucho mayores que la mediana de  $800 \text{ mg kg}^{-1}$  referida por Reimann y Caritat (1998) para suelos del mundo.

El punto más contaminado fue Aznalcázar (AZ), con un valor medio de casi  $13000 \text{ mg kg}^{-1}$  en superficie (valor máximo de  $27000 \text{ mg kg}^{-1}$ ), seguido por Marisma (MA), con concentraciones superiores a los  $4000 \text{ mg kg}^{-1}$  en ambas profundidades (Tabla 6.4). Cabe destacar la elevada concentración de S registrada en los primeros centímetros del punto Quema (QU) (próxima a los  $5000 \text{ mg kg}^{-1}$ ), y el brusco descenso observado en profundidad (25-40 cm, concentración casi 7 veces inferior). En este punto, las orillas del río formaban un promontorio sobre el que estaban situados los árboles muestreados, promontorio sobre el que pudo fluir el vertido, afectando principalmente a la superficie del mismo.

#### *Concentraciones Totales de Fe y elementos traza*

Las mayores concentraciones de As en superficie (0-25 cm) se registraron en el punto de Aznalcázar (AZ) (con un valor máximo de  $400 \text{ mg kg}^{-1}$ ), siendo la concentración media 23 veces mayor que la registrada en los suelos de referencia. Este punto presentó también una concentración de S muy elevada. También se registraron



concentraciones altas de As en los puntos de Soberbina (SO y SI), con concentraciones medias unas 13 veces superiores a las de los puntos de referencia (Tabla 6.4).

**Tabla 6.4.** Concentración de S y elementos traza As, Pb y Zn extraídos con *aqua regia* en los suelos estudiados. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 5$ , excepto  $n=4$  para SI y  $n = 3$  para MA). Para cada elemento y profundidad, se han indicado los valores F y p del ANOVA; valores seguidos de la misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Punto	Prof.	S (mg kg <sup>-1</sup> )	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
RHU	0 - 25	252 $\pm$ 47,0 <b>ab</b>	8,30 $\pm$ 0,23 <b>a</b>	18,8 $\pm$ 0,26 <b>a</b>	65,9 $\pm$ 4,31 <b>a</b>
	25 - 40	181 $\pm$ 38,0 <i>ab</i>	8,70 $\pm$ 0,20 <i>a</i>	18,3 $\pm$ 1,40 <i>ab</i>	60,7 $\pm$ 4,00 <i>a</i>
GE	0 - 25	189 $\pm$ 32,0 <b>a</b>	9,90 $\pm$ 1,20 <b>a</b>	23,1 $\pm$ 4,30 <b>a</b>	50,3 $\pm$ 7,80 <b>a</b>
	25 - 40	124 $\pm$ 20,2 <i>a</i>	11,3 $\pm$ 0,80 <i>ab</i>	14,3 $\pm$ 3,00 <i>a</i>	45,0 $\pm$ 5,0 <i>a</i>
SO	0 - 25	3068 $\pm$ 644 <b>abc</b>	121 $\pm$ 21,7 <b>bc</b>	502 $\pm$ 107 <b>d</b>	469 $\pm$ 117 <b>bc</b>
	25 - 40	1229 $\pm$ 255 <i>c</i>	75,7 $\pm$ 11,6 <i>c</i>	166 $\pm$ 20,4 <i>dc</i>	194 $\pm$ 24,5
SI	0 - 25	3765 $\pm$ 1996 <b>bc</b>	115 $\pm$ 43,7 <b>bc</b>	383 $\pm$ 173 <b>bcd</b>	563 $\pm$ 147 <b>bc</b>
	25 - 40	2810 $\pm$ 988 <i>c</i>	42,5 $\pm$ 12,2 <i>c</i>	77,5 $\pm$ 17,2 <i>cd</i>	799 $\pm$ 330 <i>ab</i>
DO	0 - 25	4394 $\pm$ 610 <b>bcd</b>	74,0 $\pm$ 12,6 <b>abc</b>	206 $\pm$ 48,5 <b>bcd</b>	847 $\pm$ 159 <b>c</b>
	25 - 40	1492 $\pm$ 145 <i>c</i>	47,8 $\pm$ 6,2 <i>c</i>	216 $\pm$ 36,6 <i>d</i>	956 $\pm$ 214 <i>c</i>
LA	0 - 25	3884 $\pm$ 1363 <b>abc</b>	83,3 $\pm$ 37,0 <b>abc</b>	133 $\pm$ 49,4 <b>bc</b>	315 $\pm$ 98,0 <b>ab</b>
	25 - 40	1036 $\pm$ 202 <i>c</i>	48,7 $\pm$ 1,35 <i>c</i>	88,3 $\pm$ 35,5 <i>bcd</i>	257 $\pm$ 76,0 <i>ab</i>
AZ	0 - 25	12920 $\pm$ 4074 <b>d</b>	204 $\pm$ 64,8 <b>c</b>	517 $\pm$ 168 <b>cd</b>	883 $\pm$ 66,0 <b>c</b>
	25 - 40	3980 $\pm$ 1781 <i>c</i>	43,9 $\pm$ 1,50 <i>c</i>	202 $\pm$ 51,6 <i>d</i>	715 $\pm$ 42,1 <i>bc</i>
QU	0 - 25	4872 $\pm$ 2179 <b>bcd</b>	73,4 $\pm$ 34,7 <b>abc</b>	165 $\pm$ 66,9 <b>bcd</b>	403 $\pm$ 98,7 <b>bc</b>
	25 - 40	731 $\pm$ 109 <i>bc</i>	28,4 $\pm$ 2,40 <i>bc</i>	29,5 $\pm$ 2,34 <i>abc</i>	320 $\pm$ 68,9 <i>abc</i>
TI	0 - 25	1288 $\pm$ 189 <b>abc</b>	40,6 $\pm$ 11,8 <b>ab</b>	76,4 $\pm$ 14,1 <b>ab</b>	428 $\pm$ 109 <b>bc</b>
	25 - 40	1588 $\pm$ 686 <i>c</i>	52,0 $\pm$ 16,1 <i>c</i>	90,6 $\pm$ 18,5 <i>cd</i>	622 $\pm$ 129 <i>abc</i>
MA	0 - 25	4156 $\pm$ 1088 <b>bcd</b>	84,9 $\pm$ 19,1 <b>abc</b>	161 $\pm$ 38,4 <b>bcd</b>	682 $\pm$ 60,2 <b>bc</b>
	25 - 40	5320 $\pm$ 4395 <i>c</i>	115 $\pm$ 83,0 <i>c</i>	270 $\pm$ 170 <i>d</i>	572 $\pm$ 226 <i>abc</i>
F	0 - 25	9,91	5,86	12,99	13,13
p	0 - 25	0,000	0,000	0,000	0,000
F	25 - 40	9,82	11,55	14,90	15,99
p	25 - 40	0,000	0,000	0,000	0,000
Concentración Normal <sup>a</sup>		30 - 1600	0,1 - 40	2 - 300	1 - 900
Concentración Tóxica <sup>b</sup>			20	100 - 400	70 - 400

<sup>a</sup> Bowen (1979). Concentración normal en suelos

<sup>b</sup> Ross (1994), Singh y Steinnes (1994). Concentración tóxica para las plantas

El punto menos contaminado en superficie fue Tiesa (TI), único de los afectados cuya concentración de As coincidió con el límite superior del intervalo considerado normal en suelos (Tabla 6.4); en los restantes puntos de muestreo se superó este intervalo de concentraciones "normales", aunque cabe destacar una concentración comparativamente baja de As en la profundidad de 25-40 cm del punto Quema (QU) ( $28,4 \text{ mg kg}^{-1}$ , Tabla 6.4), consecuencia, posiblemente, de las características peculiares de este punto (promontorio en el que estaban situados los árboles). Según se indicó en el apartado correspondiente a la grama (apartado 5.3.1.2.), las zonas llanas circundantes a este promontorio presentaron niveles de contaminación mucho más altos.

En todos los puntos afectados por el vertido se superó la concentración de As considerada "tóxica" para las plantas ( $20 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Según las directrices elaboradas por la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía (CMA, 2000), las concentraciones de As registradas exigían el tratamiento obligatorio de los suelos (categoría establecida para concentraciones mayores a  $50 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Este umbral se superó en el suelo superficial de todos los puntos afectados, salvo en Tiesa (TI) que sin embargo lo superó en profundidad (Tabla 6.4).

En general, las mayores concentraciones de As se obtuvieron en los primeros centímetros de suelo (0-25 cm). Sin embargo, en los puntos Tiesa y Marisma fueron algo mayores en profundidad (25-40 cm), circunstancia que también se observó en el caso del S (Tabla 6.4).

El punto Aznalcázar (AZ) también presentó en superficie las mayores concentraciones de Pb (unas 25 veces mayor que en los suelos de referencia) y de Zn (unas 15 veces mayor). También se registraron concentraciones altas de Pb en Soberbina (SO) y de Zn en Doblas (DO).

El suelo de la Tiesa (TI) presentó una contaminación comparativamente baja de Pb (igual que para As), aunque la concentración más baja de todas las registradas correspondió de nuevo al punto Quema (QU) en profundidad ( $29,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ), siendo razonablemente similar a las registrados en los puntos de referencia (sin diferencias significativas, Tabla 6.4). Los puntos Lagares (LA) y Marisma (MA) también presentaron una contaminación de Pb relativamente más baja. Las concentraciones de los dos puntos de Soberbina (SO y SI) y Aznalcázar (AZ) superaron en superficie el intervalo considerado normal en plantas.

**Tabla 6.5.** Concentración de Fe y elementos traza Mn, Cu y Ni extraídos con *aqua regia* en los suelos estudiados. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 5$ , excepto  $n = 4$  para SI y  $n = 3$  para MA). Para cada elemento y profundidad, se han indicado los valores F y p del ANOVA; valores seguidos de la misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Punto	Prof.	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Ni (mg kg <sup>-1</sup> )
RHU	0 - 25	32420 $\pm$ 676 <b>bc</b>	534 $\pm$ 12,8 <b>b</b>	22,1 $\pm$ 1,74 <b>a</b>	22,8 $\pm$ 0,83 <b>c</b>
	25 - 40	33260 $\pm$ 670 <i>cd</i>	557 $\pm$ 27,0 <i>abc</i>	22,1 $\pm$ 1,74 <i>ab</i>	22,0 $\pm$ 0,72 <i>bc</i>
GE	0 - 25	19420 $\pm$ 1583 <b>ab</b>	468 $\pm$ 42,2 <b>ab</b>	15,2 $\pm$ 2,36 <b>a</b>	12,9 $\pm$ 0,50 <b>ab</b>
	25 - 40	19380 $\pm$ 1188 <i>ab</i>	439 $\pm$ 29,7 <i>ab</i>	13,1 $\pm$ 1,73 <i>a</i>	12,1 $\pm$ 0,79 <i>a</i>
SO	0 - 25	46120 $\pm$ 4251 <b>c</b>	531 $\pm$ 71,6 <b>b</b>	190 $\pm$ 30,7 <b>b</b>	18,1 $\pm$ 1,40 <b>c</b>
	25 - 40	42960 $\pm$ 2122 <i>d</i>	581 $\pm$ 85,6 <i>bc</i>	182 $\pm$ 28,3 <i>bcd</i>	19,7 $\pm$ 1,61 <i>bc</i>
SI	0 - 25	40325 $\pm$ 8626 <b>c</b>	527 $\pm$ 68,3 <b>b</b>	192 $\pm$ 70,4 <b>b</b>	19,9 $\pm$ 1,20 <b>c</b>
	25 - 40	27100 $\pm$ 2730 <i>abc</i>	519 $\pm$ 89,0 <i>abc</i>	153 $\pm$ 60,1 <i>abcd</i>	19,1 $\pm$ 2,30 <i>b</i>
DO	0 - 25	33660 $\pm$ 2249 <b>bc</b>	578 $\pm$ 66,3 <b>b</b>	228 $\pm$ 37,8 <b>b</b>	21,3 $\pm$ 1,27 <b>c</b>
	25 - 40	35420 $\pm$ 618 <i>cd</i>	743 $\pm$ 97,3 <i>c</i>	323 $\pm$ 65,2 <i>d</i>	25,5 $\pm$ 1,06 <i>c</i>
LA	0 - 25	35400 $\pm$ 5825 <b>bc</b>	457 $\pm$ 69,7 <b>ab</b>	149 $\pm$ 64,1 <b>ab</b>	18,2 $\pm$ 0,76 <b>c</b>
	25 - 40	34500 $\pm$ 5150 <i>cd</i>	491 $\pm$ 44,0 <i>abc</i>	155 $\pm$ 69,5 <i>abcd</i>	19,02 $\pm$ 0,64 <i>b</i>
AZ	0 - 25	44280 $\pm$ 6549 <b>c</b>	536 $\pm$ 9,00 <b>b</b>	255 $\pm$ 28,3 <b>b</b>	18,7 $\pm$ 0,67 <b>c</b>
	25 - 40	34740 $\pm$ 2260 <i>cd</i>	557 $\pm$ 22,8 <i>abc</i>	219 $\pm$ 16,1 <i>cd</i>	19,3 $\pm$ 0,82 <i>b</i>
QU	0 - 25	18080 $\pm$ 2540 <b>a</b>	237 $\pm$ 15,9 <b>a</b>	72,9 $\pm$ 19,7 <b>ab</b>	10,1 $\pm$ 0,85 <b>a</b>
	25 - 40	16740 $\pm$ 1205 <i>a</i>	282 $\pm$ 20,4 <i>a</i>	60,8 $\pm$ 9,90 <i>abc</i>	12,8 $\pm$ 0,73 <i>a</i>
TI	0 - 25	26220 $\pm$ 3189 <b>abc</b>	626 $\pm$ 78,1 <b>b</b>	149 $\pm$ 68,0 <b>ab</b>	18,3 $\pm$ 1,68 <b>bc</b>
	25 - 40	30740 $\pm$ 3071 <i>bcd</i>	763 $\pm$ 53,2 <i>c</i>	218 $\pm$ 98,8 <i>bcd</i>	21,8 $\pm$ 1,35 <i>bc</i>
MA	0 - 25	27967 $\pm$ 2051 <b>abc</b>	607 $\pm$ 54,8 <b>b</b>	158 $\pm$ 14,8 <b>b</b>	22,0 $\pm$ 1,43 <b>c</b>
	25 - 40	34000 $\pm$ 3816 <i>cd</i>	741 $\pm$ 55,9 <i>c</i>	181 $\pm$ 79,5 <i>bcd</i>	24,7 $\pm$ 2,61 <i>bc</i>
F	0 - 25	6,96	4,77	6,85	13,27
p		0,000	0,000	0,001	0,000
F	25 - 40	9,71	6,95	6,13	12,46
p		0,000	0,000	0,000	0,000
Conc.entración Normal <sup>a</sup>		2000 - 550000	20 - 10000	2 - 25	2 - 750
Concentración Tóxica <sup>b</sup>			1500 - 3000	60 - 125	100

<sup>a</sup> Bowen (1979). Concentración normal en suelos

<sup>b</sup> Ross (1994), Singh y Steinnes (1994). Concentración tóxica para las plantas

Las concentraciones de Zn en suelo superficial fueron máximas en Aznalcázar (AZ) y Doblas (DO), mientras que las concentraciones más bajas de Zn

correspondieron a los puntos Lagares (LA) y Quema (QU). En la mayoría de los puntos se superó el intervalo considerado tóxico para las plantas, excepto en Lagares y Quema. Por otra parte, sólo la concentración en Doblas, en profundidad, superó el intervalo de valores normales para suelos.

Las mayores concentraciones de Cu correspondieron de nuevo al punto Aznalcázar (AZ), junto con Doblas (DO) en este caso (Tabla 6.5). Por el contrario, en el punto Quema (QU) volvieron a registrarse concentraciones comparativamente bajas de este elemento, confirmando que se trata del punto menos contaminado de todos los afectados por el vertido. Sus concentraciones de Cu fueron las únicas que no se situaron dentro del intervalo considerado tóxico para las plantas, ampliamente superado en los puntos restantes.

Las concentraciones de Fe, Mn y Ni, en ningún caso superaron las concentraciones considerados como típicas de suelos normales, ni las consideradas tóxicas para las plantas (Tabla 6.5).

#### *Índice de carga contaminante*

Para el cálculo del índice de carga contaminante (PLI) se siguieron dos criterios, por un lado, utilizando los valores de fondo considerados por Cabrera *et al.*, (1999, criterio A) y por otro las concentraciones del punto de referencia RHU (criterio B, ver más detalles en el apartado 5.3.1.2).

Los valores más altos de contaminación (PLI) para suelos superficiales (0-25 cm) correspondieron al punto de Aznalcázar (6 según el criterio A, y 10 según el criterio B), coincidiendo con las mayores concentraciones de S, As, Pb, Zn y Cu registradas en el horizonte superficial de este punto (Tabla 6.6).

Los puntos de Soberbina (SO y SI) y Doblas (DO), y en menor medida el punto Marisma (MA), también presentaron valores de PLI relativamente altos, con el agravante de que se produjo de forma bastante homogénea en las dos profundidades estudiadas (alrededor de 4, criterio A y entre 4,5 y 7, criterio B). Mientras que en el punto Aznalcázar los valores de PLI se redujeron casi a la mitad en la segunda profundidad (Tabla 6.6).

Los puntos menos contaminados fueron Quema (QU) y Tiesa (TI), especialmente el primero, cuyo valor de contaminación (PLI) en profundidad (25-40 cm) resultó cercano a la unidad según el criterio A. Se trata de un aspecto importante ya que en el caso de especies arbóreas, el nivel de contaminación de

estratos subsuperficiales también puede contribuir a la absorción de elementos traza por las raíces más profundas.

**Tabla 6.6.** Valores de PLI para los 10 puntos de estudio, considerando como valores de fondo de elementos traza: (A), los facilitados por Cabrera *et al.*, (1999), para suelos no contaminados de la Cuenca del Guadamar y (B), utilizando como valores de referencia los obtenidos en RHU (valores medios).

Punto	0-25 cm		25-40 cm	
	PLI (A)	PLI (B)	<b>PLI (A)</b>	PLI (B)
RHU	0,60	1,00	0,60	1,00
GE	0,53	0,85	0,46	0,75
SO	4,50	7,20	2,70	4,50
SI	4,40	7,00	3,70	6,10
DO	4,10	6,60	4,30	7,00
LA	2,80	4,50	2,30	3,70
AZ	6,00	9,70	3,10	5,10
QU	2,30	3,70	1,30	2,10
TI	2,30	3,70	3,00	5,00
MA	3,60	5,70	4,30	7,00

Al comparar estos valores con los obtenidos para el caso de las gramas (Tabla 5.5 y Tabla.6.6), se aprecia que para una misma zona de muestreo, no coinciden los valores de PLI obtenidos en los suelos de ribera (álamos) y en los de las vegas o terrazas (grama). Por ejemplo, en el caso de zonas que pudieron ser fácilmente intervenidas, como Aznalcázar (AZ) y Lagares (LA), los valores de PLI resultaron más bajos para los suelos de la grama y más altos para el álamo blanco, debido a la ubicación más cercana al cauce de este último, lo que según se ha indicado, impidió las labores de limpieza.

En los puntos QU y TI se observó el comportamiento opuesto. En el caso de QU se pudo deber a la ubicación de los álamos (sobre un promontorio) y a que el área donde se muestreó la grama también resultaba bastante inaccesible a las labores de limpieza.

En el punto DO no se observaron cambios importantes en los valores de PLI entre suelos de álamo y suelos de gramas debido a que la zona de muestreo, inaccesible a las labores de limpieza, fue prácticamente la misma para las dos especies.

#### **6.4.3. Concentraciones disponibles de elementos traza**

Sólo una pequeña fracción del contenido total de elementos traza está disponible para las plantas; disponibilidad que, a su vez, estará condicionada por numerosas variables edafo-climáticas no contempladas en las distintas metodologías analíticas utilizadas para su estudio (ver apartado 5.3.1.3). Por tanto es preferible utilizar la denominación de "elementos *potencialmente* disponibles" para la concentración de estos elementos extraídos (con sales neutras, agentes quelantes, etc).

##### *Concentración de Fe y elementos traza*

En general, las concentraciones potencialmente disponibles de los elementos en los suelos afectados fueron mayores que en los suelos de referencia, aunque las diferencias no siempre fueran significativas (Tablas 6.7 y 6.8).

Las mayores concentraciones disponibles (extraíbles con EDTA) de Cd, Zn y Cu correspondieron a los puntos de Aznalcázar (AZ) y Doblas (DO) (Tablas 6.7 y 6.8), en concordancia con los mayores valores de PLI obtenidos, tanto en superficie (0-25 cm) como en profundidad (25-40 cm). También cabe destacar las concentraciones comparativamente altas de Zn registradas en el punto SI y las de Cd del punto MA (Tabla 6.7).

Sin embargo las concentraciones disponibles de Fe, Mn y Ni de los suelos afectados no resultaron, en general, más altas que las de los suelos de los puntos de referencia RHU y GE. Sólo en el caso del Fe cabría destacar una concentración comparativamente alta en el punto Soverbina (SO) (y baja en el punto de referencia GE). Las concentraciones de Mn también resultaron comparativamente altas en los puntos SO y SI, así como en el punto de referencia de RHU (Tabla 6.8).

En conjunto, los valores disponibles de los elementos traza As, Pb, Cu, Zn, y en menor medida Cd, fueron mayor en estos suelos que en los suelos donde fue recolectada la grama. Por ejemplo, las concentraciones de As y Pb extraídos con EDTA estuvieron comprendidas en un intervalo de 0,31 - 3,12 mg kg<sup>-1</sup> y 15,9 - 169 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente, mientras que en el caso de la grama estos intervalos fueron de 0,13 - 0,59 mg kg<sup>-1</sup> y 10,2 - 38,6 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Esto podría estar relacionado con la inaccesibilidad para la limpieza y aplicación de

enmiendas de los emplazamientos de los álamos, aspecto comentado en los apartados anteriores.

**Tabla 6.7.** Concentración de elementos traza As, Cd, Pb y Zn extraídos con EDTA en los suelos estudiados. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 5$ , excepto  $n = 4$  para SI y  $n = 3$  para MA). Para cada elemento y profundidad, se han indicado los valores F y p del ANOVA; valores seguidos por una misma letra, no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Punto	Prof.	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
RHU	0 - 25	0,04 ± 0,01 <b>a</b>	4,59 ± 0,35 <b>a</b>	0,02 ± 0,005 <b>a</b>	4,40 ± 1,43 <b>a</b>
	25 - 40	0,15 ± 0,06 <i>a</i>	4,91 ± 0,46 <i>ab</i>	0,02 ± 0,006 <i>ab</i>	3,21 ± 0,35 <i>a</i>
GE	0 - 25	0,52± 0,12 <b>bc</b>	6,32 ± 1,75 <b>ab</b>	0,03 ± 0,01 <b>a</b>	4,73 ± 1,47 <b>a</b>
	25 - 40	0,39 ± 0,10 <i>b</i>	3,79 ± 1,04 <i>a</i>	0,01 ± 0,007 <i>a</i>	2,12 ± 0,61 <i>a</i>
SO	0 - 25	3,12 ± 0,82 <b>d</b>	169 ± 48,1 <b>e</b>	0,88 ± 0,36 <b>b</b>	109 ± 37,0 <b>ab</b>
	25 - 40	0,56 ± 0,16 <i>b</i>	23,1 ± 2,87 <i>cd</i>	0,22 ± 0,11 <i>abc</i>	35,7 ± 15,3 <i>ab</i>
SI	0 - 25	0,90 ± 0,32 <b>cbc</b>	11,9 ± 4,04 <b>abc</b>	1,05± 0,73 <b>b</b>	125 ± 59,9 <b>ab</b>
	25 - 40	0,90 ± 0,19 <i>b</i>	77,7 ± 65,8 <i>cd</i>	1,73 ± 0,79 <i>de</i>	152 ± 53,2 <i>c</i>
DO	0 - 25	1,23 ± 0,34 <b>cd</b>	52,7 ± 10,9 <b>de</b>	1,82 ± 0,46 <b>b</b>	137 ± 31,6 <b>ab</b>
	25 - 40	0,92 ± 0,06 <i>b</i>	71,6 ± 12,9 <i>d</i>	2,54 ± 0,76 <i>e</i>	149 ± 45,4 <i>c</i>
LA	0 - 25	1,00 ± 0,06 <b>b</b>	24,7 ± 7,1 <b>bcd</b>	0,49 ± 0,15 <b>b</b>	53,0 ± 18,0 <b>ab</b>
	25 - 40	0,87 ± 0,04 <i>bc</i>	24,8 ± 8,50 <i>bcd</i>	0,37 ± 0,10 <i>bcd</i>	30,6 ± 5,46 <i>ab</i>
AZ	0 - 25	1,85 ± 0,65 <b>cd</b>	53,6 ± 12,7 <b>de</b>	2,11 ± 0,31 <b>b</b>	173 ± 27,6 <b>b</b>
	25 - 40	0,89 ± 0,08 <i>b</i>	59,4 ± 11,3 <i>d</i>	1,87 ± 0,20 <i>de</i>	135 ± 14,9 <i>c</i>
QU	0 - 25	1,27 ± 0,05 <b>cd</b>	15,9 ± 3,42 <b>abcd</b>	0,96 ± 0,33 <b>b</b>	113 ± 35,1 <b>ab</b>
	25 - 40	0,93 ± 0,02 <i>b</i>	12,3 ± 1,81 <i>abc</i>	0,86 ± 0,23 <i>bcde</i>	72,2 ± 11,4 <i>bc</i>
TI	0 - 25	0,87 ± 0,11 <b>cd</b>	17,4 ± 3,97 <b>abcd</b>	0,72 ± 0,20 <b>b</b>	63,4 ± 11,9 <b>ab</b>
	25 - 40	0,59 ± 0,13 <i>b</i>	19,3 ± 3,51 <i>bcd</i>	1,24 ± 0,29 <i>cde</i>	94,3 ± 18,5 <i>bc</i>
MA	0 - 25	0,31 ± 0,20 <b>b</b>	30,9 ± 4,28 <b>cd</b>	1,54 ± 0,28 <b>b</b>	121 ± 2,19 <b>ab</b>
	25 - 40	0,82 ± 0,17 <i>c</i>	24,6 ± 2,62 <i>cd</i>	1,54 ± 1,01 <i>cde</i>	89,0 ± 39,1 <i>bc</i>
<hr/>					
F	0 - 25	19,85	13,25	16,16	7,81
p		0,000	0,000	0,000	0,001
<hr/>					
F	25 - 40	8,66	10,75	9,56	10,90
p		0,000	0,000	0,000	0,000

Como ya ocurriera en el caso de la grama, no siempre existe correlación entre las fracciones totales y extraíbles con EDTA (potencialmente disponibles). Para As y Pb, la mayor extractabilidad con EDTA (profundidad 0-25 cm) correspondió al punto SO, mientras que los mayores contenidos totales se registraron en el punto AZ. Las

características texturales del punto SO, algo más arenoso que los restantes afectados, y su menor concentración de  $\text{CaCO}_3$  (muy baja) pudieron influir en las diferencias de extractabilidad observadas para As y Pb (Tabla 6.7).

**Tabla 6.8.** Concentración de Fe y elementos traza Mn, Cu y Ni extraídos con EDTA en los suelos estudiados. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 5$ , excepto  $n = 4$  para SI y  $n = 3$  para MA). Para cada elemento y profundidad, se han indicado los valores F y p del ANOVA; valores seguidos por una misma letra, no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Punto	Prof.	Fe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Mn ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Ni ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
RHU	0 - 25	170 $\pm$ 22,7 <b>ab</b>	98,2 $\pm$ 10,3 <b>c</b>	7,21 $\pm$ 1,38 <b>ab</b>	0,77 $\pm$ 0,11 <b>abc</b>
	25 - 40	153 $\pm$ 26,1 <i>bc</i>	136 $\pm$ 14,7 <i>b</i>	6,40 $\pm$ 0,95 <i>ab</i>	1,03 $\pm$ 0,11 <i>b</i>
GE	0 - 25	55,1 $\pm$ 8,24 <b>a</b>	57,1 $\pm$ 10,7 <b>abc</b>	4,11 $\pm$ 1,21 <b>a</b>	0,63 $\pm$ 0,14 <b>abc</b>
	25 - 40	53,6 $\pm$ 4,55 <i>a</i>	55,6 $\pm$ 7,56 <i>ab</i>	2,67 $\pm$ 0,55 <i>a</i>	0,58 $\pm$ 0,07 <i>ab</i>
SO	0 - 25	395 $\pm$ 39,4 <b>b</b>	96,9 $\pm$ 21,5 <b>bc</b>	61,9 $\pm$ 11,9 <b>c</b>	1,17 $\pm$ 0,22 <b>c</b>
	25 - 40	222 $\pm$ 49,9 <i>c</i>	51,2 $\pm$ 28,6 <i>a</i>	44,0 $\pm$ 8,00 <i>abc</i>	0,71 $\pm$ 0,27 <i>ab</i>
SI	0 - 25	115 $\pm$ 19,9 <b>a</b>	92,2 $\pm$ 21,6 <b>bc</b>	59,0 $\pm$ 29,2 <b>abc</b>	1,04 $\pm$ 0,41 <b>bc</b>
	25 - 40	168 $\pm$ 56,1 <i>bc</i>	88,2 $\pm$ 32,3 <i>ab</i>	60,4 $\pm$ 31,6 <i>bc</i>	0,75 $\pm$ 0,22 <i>ab</i>
DO	0 - 25	80,0 $\pm$ 9,49 <b>a</b>	38,1 $\pm$ 6,30 <b>ab</b>	76,5 $\pm$ 16,0 <b>c</b>	0,45 $\pm$ 0,08 <b>abc</b>
	25 - 40	93,1 $\pm$ 12,2 <i>abc</i>	38,6 $\pm$ 5,77 <i>ab</i>	108 $\pm$ 24,2 <i>c</i>	0,51 $\pm$ 0,13 <i>ab</i>
LA	0 - 25	98,0 $\pm$ 34,7 <b>a</b>	33,2 $\pm$ 6,21 <b>a</b>	39,9 $\pm$ 17,3 <b>abc</b>	0,36 $\pm$ 0,04 <b>ab</b>
	25 - 40	99,0 $\pm$ 28,3 <i>abc</i>	39,7 $\pm$ 10,9 <i>ab</i>	44,6 $\pm$ 19,3 <i>abc</i>	0,38 $\pm$ 0,07 <i>ab</i>
AZ	0 - 25	232 $\pm$ 101 <b>ab</b>	54,3 $\pm$ 11,3 <b>abc</b>	80,3 $\pm$ 13,9 <b>c</b>	0,72 $\pm$ 0,13 <b>abc</b>
	25 - 40	123 $\pm$ 20,4 <i>abc</i>	38,2 $\pm$ 1,02 <i>ab</i>	85,9 $\pm$ 6,57 <i>c</i>	0,51 $\pm$ 0,09 <i>ab</i>
QU	0 - 25	113 $\pm$ 48,2 <b>a</b>	33,9 $\pm$ 11,2 <b>a</b>	31,2 $\pm$ 8,10 <b>abc</b>	0,47 $\pm$ 0,11 <b>abc</b>
	25 - 40	69,4 $\pm$ 6,10 <i>ab</i>	18,7 $\pm$ 0,82 <i>a</i>	31,2 $\pm$ 4,70 <i>abc</i>	0,37 $\pm$ 0,07 <i>a</i>
TI	0 - 25	87,8 $\pm$ 16,9 <b>a</b>	32,2 $\pm$ 5,08 <b>a</b>	50,1 $\pm$ 20,2 <b>abc</b>	0,30 $\pm$ 0,05 <b>a</b>
	25 - 40	104 $\pm$ 22,7 <i>abc</i>	33,6 $\pm$ 5,98 <i>ab</i>	73,3 $\pm$ 29,2 <i>c</i>	0,39 $\pm$ 0,05 <i>ab</i>
MA	0 - 25	158 $\pm$ 32,9 <b>ab</b>	53,0 $\pm$ 6,54 <b>abc</b>	57,4 $\pm$ 7,12 <b>abc</b>	0,42 $\pm$ 0,03 <b>abc</b>
	25 - 40	117 $\pm$ 42,4 <i>abc</i>	40,7 $\pm$ 2,26 <i>ab</i>	60,6 $\pm$ 31,5 <i>bc</i>	0,27 $\pm$ 0,06 <i>a</i>
<hr/>					
F	0 - 25	5,63	5,37	5,44	4,04
p		0,000	0,000	0,000	0,001
<hr/>					
F	25 - 40	3,84	3,91	6,87	2,86
p		0,002	0,001	0,000	0,012

También se registró una circunstancia similar en la profundidad de 25-40 cm. La concentración de As potencialmente disponible (extraíble con EDTA) del punto QU, 0,93  $\text{mg kg}^{-1}$  (Tabla 6.7), fue similar a las registradas en los puntos



afectados más contaminados, a pesar de que su concentración total fue la más baja de todas las registradas (Tabla 6.4).

Como indican Podlesáková *et al.* (2000) la movilidad de un elemento (fracción extraída con EDTA en este caso) no está sistemáticamente correlacionada con su biodisponibilidad. Estos resultados corroboran que la fracción potencialmente disponible de un elemento en el suelo no sólo depende de la concentración total del mismo, sino también de otras variables (pH, textura,  $\text{CaCO}_3$ , climatología) y de la propia naturaleza del elemento (Greger, 1999).

#### *Tendencias de variación*

Una vez estudiada la variabilidad espacial en la contaminación de los suelos (fracción disponible con EDTA) mediante comparación de los puntos de muestreo, se ha realizado un análisis de componentes principales (ACP) de las 47 muestras de suelos por separado y 8 variables edáficas (concentraciones disponibles de los 8 elementos; Tablas 6.7 y 6.8), para estudiar las principales tendencias de variación. Se han realizado dos análisis ACP independientes, uno de las muestras superficiales (0 - 25 cm) y otro de las profundas (25 - 40 cm).

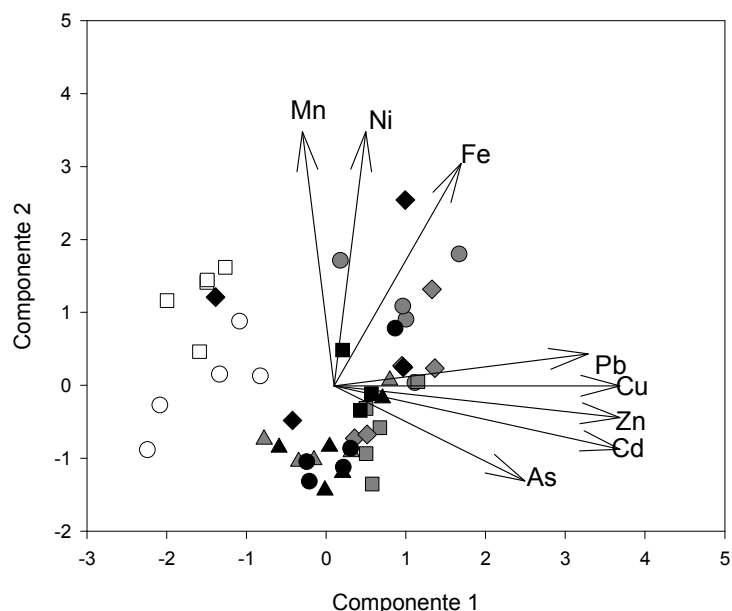
De acuerdo con el análisis ACP, para la profundidad 0-25 cm, la componente 1 explica el 53 % de la varianza, mientras que la componente 2 explica un 30 % de la varianza total. La primera componente está determinada por los elementos más importantes del vertido, Cu, Zn, Cd, Pb y en menor medida por As. La componente 2 está determinada por Mn, Ni y en menor medida por Fe (Fig. 6.2).

El gradiente de contaminación determinado por la componente 1 separó en su parte negativa los puntos no afectados por el vertido (GE y RHU) del resto. En el extremo positivo se separaron los suelos de los puntos más contaminados de (SO, DO, AZ y MA; Fig. 6.2). Destacar la heterogeneidad del punto situado en la margen izquierda de Soberbina (SI), con algunas muestras de suelo entre el grupo de las no contaminadas (valores negativos) y otras entre las más contaminadas.

La componente 2 (menos explicativa) separó, dentro del grupo de los no contaminados al punto RHU, y también la mayoría de los suelos del punto SO (y parte de SI), coincidiendo con su menor pH, y por tanto mayor disponibilidad potencial de elementos traza (Fig. 6.2).

En el análisis ACP para la profundidad 25-40 cm, la componente 1 explicó un 53% de la varianza total y la componente 2 un 25 % de la misma. Los elementos

que determinaron la componente 1 fueron Cu, Cd, Pb y Zn, muy relacionados entre sí, y en menor medida As. La componente 2, también estuvo determinada por Mn y Ni, muy relacionados, y en menor medida por Fe.



**Figura 6.2.** Análisis de componentes principales de las concentraciones disponibles en suelos (profundidad 0-25 cm) de los ocho elementos traza estudiados. Los símbolos de cada uno de los puntos se corresponden con: □ RHU, ○ GE, ● SO, ■ DO, ▲ AZ, ◆ AZ, ● QU, ■ MA, ▲ TI y ◆ SI. Los vectores indican los coeficientes (multiplicados por cinco, por claridad) de los elementos traza.

En esta profundidad, el análisis de las componentes principales separó, en líneas generales, los mismos grupos que en la profundidad de 0-25 cm, lo que indica que no existen grandes diferencias en la naturaleza y nivel de contaminación de ambas profundidades (de ahí que no se haya representado gráficamente el ACP en la profundidad 25-40 cm).

Esta técnica también ha puesto de manifiesto que dentro de cada punto afectado por el vertido existe una gran variabilidad de concentraciones de elementos traza, fruto de lo errático de la distribución del lodo residual, además de la influencia que hayan podido tener otras variables (variaciones de pH,  $\text{CaCO}_3$ , textura, humedad, etc, en "micronichos" del suelo) sobre la movilidad de estos elementos en el suelo.

## **6.5. PLANTAS: VARIABILIDAD ESPACIAL EN LA CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS MINERALES**

La presencia de concentraciones altas de elementos traza en los suelos, puede interferir, entre otros aspectos, sobre los mecanismos de absorción de nutrientes básicos para la planta, alterando así su equilibrio nutricional (Barceló y Poschrendieder, 1990; Kabata-Pendias y Pendias, 1992). Se examinan a continuación los niveles de nutrientes y elementos traza en hojas y tallos de álamo blanco que crecen en suelos afectados por el vertido minero. Se comparan con valores correspondientes a suelos de referencia (no afectados).

Los datos que se presentan en este apartado corresponden a los obtenidos en el muestreo de otoño de 2001 (42 meses después del vertido).

### **6.5.1. Concentración de nutrientes en hojas y tallos**

La presencia de elementos traza a concentraciones superiores a las normales, puede causar efectos negativos en la nutrición de la planta (ver capítulo 5). De ahí la importancia de estudiar las concentraciones de nutrientes sobre hojas y tallos en árboles que crecen en suelos con abundancia de elementos traza.

Las concentraciones de N fueron significativamente menores respecto al punto control de RHU en las hojas de los árboles de los puntos de Soverbina (SO), Lagares (LA), Aznalcázar (AZ) y Marisma (MA). En el caso del K las concentraciones fueron menores respecto al punto control de RHU en las hojas de los árboles de los puntos Soverbina (SO), Aznalcázar (AZ), Quema (QU) y Tiesa (TI). En el resto de puntos las concentraciones en hojas para ambos nutrientes fueron inferiores a las obtenidas en la RHU, aunque sin diferencias significativas (Tabla 6.9).

Nos hemos referido al punto RHU como principal punto comparativo, libre de contaminación. En Gerena existe una apreciable contaminación residual, fruto de actividades mineras de otros tiempos, que puede confundir los efectos.

Las concentraciones de P significativamente mayores se obtuvieron en RHU, QU (uno de los puntos con menor contaminación en suelos) y SI, en comparación con uno de los puntos más contaminados, SO. Cabe pensar, que la presencia de elementos traza pudo haber interferido en cierta medida en la absorción de P por la planta, directamente o indirectamente, limitando la actividad de las micorrizas.

**Tabla 6.9.** Concentración de nutrientes en hojas de álamo (2001). Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ , excepto  $n = 4$  para GE y  $n = 3$  para MA). Para cada elemento, se han indicado los valores F y p del ANOVA; valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Punto	N (%)	P (%)	K (%)
RHU	1,77 $\pm$ 0,09 <b>d</b>	0,13 $\pm$ 0,007 <b>b</b>	0,95 $\pm$ 0,18 <b>c</b>
GE	1,56 $\pm$ 0,05 <b>bcd</b>	0,12 $\pm$ 0,010 <b>ab</b>	0,55 $\pm$ 0,05 <b>abc</b>
SO	1,13 $\pm$ 0,02 <b>a</b>	0,09 $\pm$ 0,005 <b>a</b>	0,40 $\pm$ 0,05 <b>a</b>
SI	1,65 $\pm$ 0,10 <b>cd</b>	0,13 $\pm$ 0,010 <b>b</b>	0,73 $\pm$ 0,10 <b>bc</b>
DO	1,43 $\pm$ 0,04 <b>abcd</b>	0,12 $\pm$ 0,006 <b>ab</b>	0,63 $\pm$ 0,06 <b>abc</b>
LA	1,41 $\pm$ 0,09 <b>abc</b>	0,11 $\pm$ 0,006 <b>ab</b>	0,67 $\pm$ 0,02 <b>bc</b>
AZ	1,22 $\pm$ 0,08 <b>ab</b>	0,12 $\pm$ 0,008 <b>ab</b>	0,52 $\pm$ 0,03 <b>ab</b>
QU	1,50 $\pm$ 0,09 <b>bcd</b>	0,13 $\pm$ 0,005 <b>b</b>	0,58 $\pm$ 0,07 <b>abc</b>
TI	1,60 $\pm$ 0,06 <b>cd</b>	0,12 $\pm$ 0,010 <b>ab</b>	0,53 $\pm$ 0,04 <b>ab</b>
MA	1,34 $\pm$ 0,09 <b>abc</b>	0,10 $\pm$ 0,001 <b>ab</b>	0,45 $\pm$ 0,05 <b>abc</b>
F	7,83	2,93	4,78
p	0,000	0,010	0,000

Punto	Ca (%)	Mg (%)	S (%)
RHU	1,87 $\pm$ 0,25 <b>a</b>	0,31 $\pm$ 0,04 <b>abc</b>	0,20 $\pm$ 0,01 <b>a</b>
GE	3,11 $\pm$ 0,33 <b>ab</b>	0,37 $\pm$ 0,02 <b>abcd</b>	0,22 $\pm$ 0,02 <b>a</b>
SO	4,56 $\pm$ 0,20 <b>b</b>	0,98 $\pm$ 0,06 <b>e</b>	0,55 $\pm$ 0,05 <b>d</b>
SI	2,37 $\pm$ 0,33 <b>a</b>	0,46 $\pm$ 0,07 <b>cd</b>	0,54 $\pm$ 0,10 <b>bcd</b>
DO	3,20 $\pm$ 0,29 <b>ab</b>	0,37 $\pm$ 0,03 <b>abcd</b>	0,52 $\pm$ 0,06 <b>cd</b>
LA	2,79 $\pm$ 0,21 <b>a</b>	0,24 $\pm$ 0,03 <b>a</b>	0,44 $\pm$ 0,04 <b>bcd</b>
AZ	2,88 $\pm$ 0,58 <b>a</b>	0,47 $\pm$ 0,07 <b>cd</b>	0,53 $\pm$ 0,06 <b>cd</b>
QU	2,26 $\pm$ 0,44 <b>a</b>	0,26 $\pm$ 0,01 <b>ab</b>	0,30 $\pm$ 0,03 <b>abcd</b>
TI	2,10 $\pm$ 0,22 <b>a</b>	0,43 $\pm$ 0,01 <b>d</b>	0,27 $\pm$ 0,02 <b>abcd</b>
MA	3,17 $\pm$ 0,37 <b>ab</b>	0,56 $\pm$ 0,03 <b>bcd</b>	0,34 $\pm$ 0,03 <b>ab</b>
F	5,27	14,85	9,34
p	0,000	0,000	0,000

Los elementos Ca, Mg y S tuvieron un comportamiento opuesto, en general, al de N, P y K. Las concentraciones de estos nutrientes en las hojas de los puntos afectados fueron superiores a las obtenidas en el punto no afectado de RHU (Tabla 6.9).

De todas las concentraciones de Ca, respecto al punto control RHU sólo resultó significativa la obtenida en SO, más de dos veces superior (Tabla 6.9). El hecho de que la mayor concentración de Ca se haya obtenido en el punto más contaminado de SO (también fueron comparativamente altas en los puntos DO y MA, e incluso GE, cuya contaminación por As y Pb afectó a los árboles correspondientes, según se discute más adelante) podría ser reflejo de la

respuesta vegetal ante el estrés causado por los metales pesados, donde el Ca ejerce una acción favorable.

La concentración de Ca de las hojas procedentes del punto RHU fue del orden de la obtenida por Djingova *et al.* (1996) para *P. nigra* sobre suelos no contaminados. Concentraciones sólo ligeramente superiores a este valor (1,82 %) se obtuvieron en los puntos menos contaminados de QU (2,26 %) y TI (2,10 %), mientras que en el resto de puntos fueron claramente superiores a este valor (Tabla 6.9).

Las concentraciones de Mg también tendían a ser mayores en los puntos afectados, y en GE, que en el punto RHU (referencia), aunque sólo resultó significativo este aumento de concentración en el punto SO y TI (Tabla 6.9).

Las mayores concentraciones de S en hoja se obtuvieron en los puntos SO, SI, DO y AZ; algo más de dos veces superiores a la obtenida en los puntos de referencia (RHU y GE), y con diferencias significativas respecto a estos dos puntos. Concentraciones de S superiores a 0,5 % denotaron una notable disponibilidad del elemento para la planta, siendo la hoja el principal órgano acumulador (Tabla 6.10).

Con respecto a las concentraciones de nutrientes en los tallos, con el N no se observó un comportamiento definido, registrándose la mayor concentración, 1,14 %, en los tallos de los árboles del punto más contaminado, SO (Tabla 6.10). Por el contrario, en el caso de P y K sí se observó una tendencia generalizada hacia presencia de concentraciones más bajas en los suelos afectados, y punto de GE, respecto al punto de referencia RHU, aunque las diferencias no resultaron significativas en la generalidad de los casos.

Como en la hoja, Ca y Mg no presentaron el mismo comportamiento que N, P y K, aumentando su concentración en los puntos afectados por el vertido, respecto al punto de referencia RHU, tendencia más acusada en el caso del Ca que del Mg. Las diferencias sólo resultaron significativas en el caso del punto DO para el Ca y SO para el Mg. En el caso de S en tallos, las concentraciones fueron del mismo orden tanto en las zonas afectadas como control (Tabla 6.10).

El efecto negativo que pueden tener los elementos traza sobre el equilibrio nutricional de la planta en el caso del álamo blanco, dado el nivel de contaminación comparativamente alto que registraron los suelos donde se ubicaron estos árboles, no resultó ser muy llamativo, como en un principio se pudo pensar. Según se indicó en apartados anteriores, la limitación que supuso su

presencia para las labores de limpieza de los suelos, facilitó la persistencia de lodo residual en su entorno. El nivel de contaminación de estos puntos fue más alto, en general, que el que presentaron los suelos adyacentes donde se muestreó la grama.

**Tabla 6.10.** Concentración de nutrientes en tallos de álamo (2001). Valores medios  $\pm$  error estándar (n = 5, excepto n = 4 para GE y n = 3 para MA). Para cada elemento, se han indicado los valores F y p del ANOVA; valores seguidos por la misma letra no difieren significativamente ( $p < 0,05$ ).

Punto	N (%)	P (%)	K (%)
RHU	0,98 $\pm$ 0,09 <b>abc</b>	0,16 $\pm$ 0,030 <b>b</b>	0,61 $\pm$ 0,05 <b>b</b>
GE	0,73 $\pm$ 0,11 <b>ab</b>	0,10 $\pm$ 0,006 <b>ab</b>	0,35 $\pm$ 0,03 <b>a</b>
SO	1,14 $\pm$ 0,15 <b>c</b>	0,11 $\pm$ 0,010 <b>ab</b>	0,46 $\pm$ 0,05 <b>ab</b>
SI	0,64 $\pm$ 0,07 <b>a</b>	0,09 $\pm$ 0,010 <b>a</b>	0,48 $\pm$ 0,03 <b>ab</b>
DO	0,81 $\pm$ 0,08 <b>abc</b>	0,11 $\pm$ 0,020 <b>ab</b>	0,41 $\pm$ 0,04 <b>ab</b>
LA	0,90 $\pm$ 0,01 <b>abc</b>	0,12 $\pm$ 0,010 <b>ab</b>	0,60 $\pm$ 0,02 <b>b</b>
AZ	0,65 $\pm$ 0,04 <b>a</b>	0,11 $\pm$ 0,010 <b>ab</b>	0,41 $\pm$ 0,02 <b>ab</b>
QU	1,04 $\pm$ 0,05 <b>bc</b>	0,11 $\pm$ 0,002 <b>ab</b>	0,54 $\pm$ 0,04 <b>ab</b>
TI	0,72 $\pm$ 0,04 <b>ab</b>	0,12 $\pm$ 0,010 <b>ab</b>	0,54 $\pm$ 0,09 <b>ab</b>
MA	0,94 $\pm$ 0,18 <b>abc</b>	0,14 $\pm$ 0,010 <b>ab</b>	0,42 $\pm$ 0,04 <b>ab</b>
<b>F</b>	4,74	2,46	3,24
<b>p</b>	0,000	0,026	0,005
Punto	Ca (%)	Mg (%)	S (%)
RHU	1,66 $\pm$ 0,35 <b>a</b>	0,17 $\pm$ 0,030 <b>abc</b>	0,10 $\pm$ 0,012 <b>a</b>
GE	2,86 $\pm$ 0,50 <b>ab</b>	0,14 $\pm$ 0,007 <b>ab</b>	0,09 $\pm$ 0,003 <b>a</b>
SO	3,16 $\pm$ 0,20 <b>ab</b>	0,33 $\pm$ 0,030 <b>c</b>	0,14 $\pm$ 0,007 <b>a</b>
SI	1,75 $\pm$ 0,27 <b>ab</b>	0,21 $\pm$ 0,050 <b>abc</b>	0,10 $\pm$ 0,010 <b>a</b>
DO	3,29 $\pm$ 0,19 <b>b</b>	0,28 $\pm$ 0,040 <b>bc</b>	0,12 $\pm$ 0,005 <b>a</b>
LA	2,10 $\pm$ 0,05 <b>ab</b>	0,19 $\pm$ 0,010 <b>abc</b>	0,13 $\pm$ 0,005 <b>a</b>
AZ	3,11 $\pm$ 0,54 <b>ab</b>	0,27 $\pm$ 0,050 <b>bc</b>	0,12 $\pm$ 0,010 <b>a</b>
QU	1,88 $\pm$ 0,20 <b>ab</b>	0,12 $\pm$ 0,006 <b>a</b>	0,12 $\pm$ 0,009 <b>a</b>
TI	2,62 $\pm$ 0,39 <b>ab</b>	0,21 $\pm$ 0,007 <b>abc</b>	0,10 $\pm$ 0,008 <b>a</b>
MA	1,97 $\pm$ 0,50 <b>ab</b>	0,20 $\pm$ 0,030 <b>abc</b>	0,11 $\pm$ 0,020 <b>a</b>
<b>F</b>	3,74	4,58	2,49
<b>p</b>	0,002	0,000	0,024

En conjunto, los resultados obtenidos para los macronutrientes muestran que los árboles que crecen bajo la presencia de elementos traza tienden a reducir la concentración de nutrientes básicos N y K en la hoja, mientras que aumentan Ca y Mg, especialmente el primero, aunque no se puede afirmar que sea una causa directa de la presencia de elementos traza.

El caso más claro es el del punto Soberbina (SO), pero es un punto con unas características (pH, textura) muy diferentes al punto control de RHU, de ahí que no se puedan atribuir las diferencias sólo a la presencia de elementos traza en el suelo y no a otros factores.

En general, se puede decir que tanto en hojas como en tallos, no parecen que se hayan producido grandes diferencias en las concentraciones de nutrientes debido a la presencia de estos elementos en el suelo.

En un muestreo previo realizado durante la primavera del año 2000, tampoco se obtuvieron diferencias sensibles de concentración de nutrientes entre los árboles afectados por el vertido y los que no lo estaban (Madejón 2003). De cualquier forma habría que realizar una monitorización a más largo plazo para seguir confirmando estas tendencias, teniendo en cuenta que los resultados presentados (tercer año) no siempre coinciden con lo obtenido en años anteriores, según se discute más adelante (evolución temporal).

#### **6.5.2. Concentración de elementos traza en hojas y tallos**

Debido a la elevada concentración de elementos traza en los suelos, cabía esperar contenidos igualmente altos en las hojas y tallos de los árboles afectados por el vertido. Su estudio en la parte aérea de especies leñosas tiene especial importancia por su influencia sobre la red trófica, reciclado de los metales que caen al suelo con las hojas (en especies caducifolias como el álamo) e impacto de la deposición atmosférica sobre el contenido de estos elementos en la planta (Nissen y Lepp, 1997).

Como se aprecia en la Figura 6.3 la presencia de elementos traza produjo diferencias significativas de concentración entre los distintos puntos estudiados, salvo en el caso del Cu y Ni.

De los puntos afectados por el vertido, las concentraciones más altas de As, Pb, y especialmente Tl se obtuvieron en el punto Soberbina (SO), de carácter ácido. Resultaron del orden de 9 (As), 8 (Pb) y 32 (Tl) veces más altas que las obtenidas en las hojas de los árboles del punto de referencia (RHU; Fig. 6.3). Las concentraciones obtenidas en este punto (RHU) fueron similares a las obtenidas por otros autores en álamos de zonas de referencia (valores de fondo, Tabla 6.11).

No obstante, aún tratándose de concentraciones que ya se pueden considerar altas, distan mucho de los niveles que llega a alcanzar este tipo de

plantas en zonas que han estado fuertemente contaminadas durante muchos años (p. ej. refinería de metales: 250 mg kg<sup>-1</sup> de As y 91 mg kg<sup>-1</sup> de Pb, Tabla 6.11). Las concentraciones de As registradas en el punto SO, fueron dos veces más altas que las consideradas normales en plantas leñosas; las de Pb superaron sólo ligeramente el intervalo normal, y las de TI estuvieron situadas dentro del intervalo correspondiente (Tabla 6.11).

**Tabla 6.11.** Concentraciones de elementos traza (mg kg<sup>-1</sup>) según diversos autores para plantas en general, y hojas de *Populus nigra* (en zonas de referencia y zonas contaminadas).

Elemento	Intervalo normal en plantas <sup>a</sup>	Concentración en plantas leñosas <sup>b</sup>	Hojas de <i>P. nigra</i> valores de fondo <sup>c</sup>	Hojas de <i>P. nigra</i> cerca de refinerías de Pb-Zn <sup>d</sup>
As	1,0-1,7	2	0,28 ± 0,09	250 ± 60
Cd	0,05-0,2	0,02-2,4	0,15 ± 0,11	6,6 ± 0,8
Cu	5-30	6-14	4,1 ± 2,8	14 ± 2,0
Fe	-	70-180	96 ± 36	210 ± 15
Mn	30-300	17-600	110 ± 51	125 ± 10-
Ni	0,1-5	2,1-5,3	-	-
Pb	5-10	1-8	1,3 ± 0,8	91 ± 8,0
TI	-	0,03-0,3	0,0123 <sup>e</sup>	-
Zn	27-150	34-68	44 ± 30	650 ± 29

<sup>a</sup> Intervalo de concentración en plantas según Kabata- Pendias y Pendias (1992).

<sup>b</sup> Intervalo de concentración normal en plantas leñosas según Bowen (1979).

<sup>c</sup> Concentraciones medias (± error estándar) de hojas de *P. nigra* en zonas no contaminadas según Djingova *et al.* (1999).

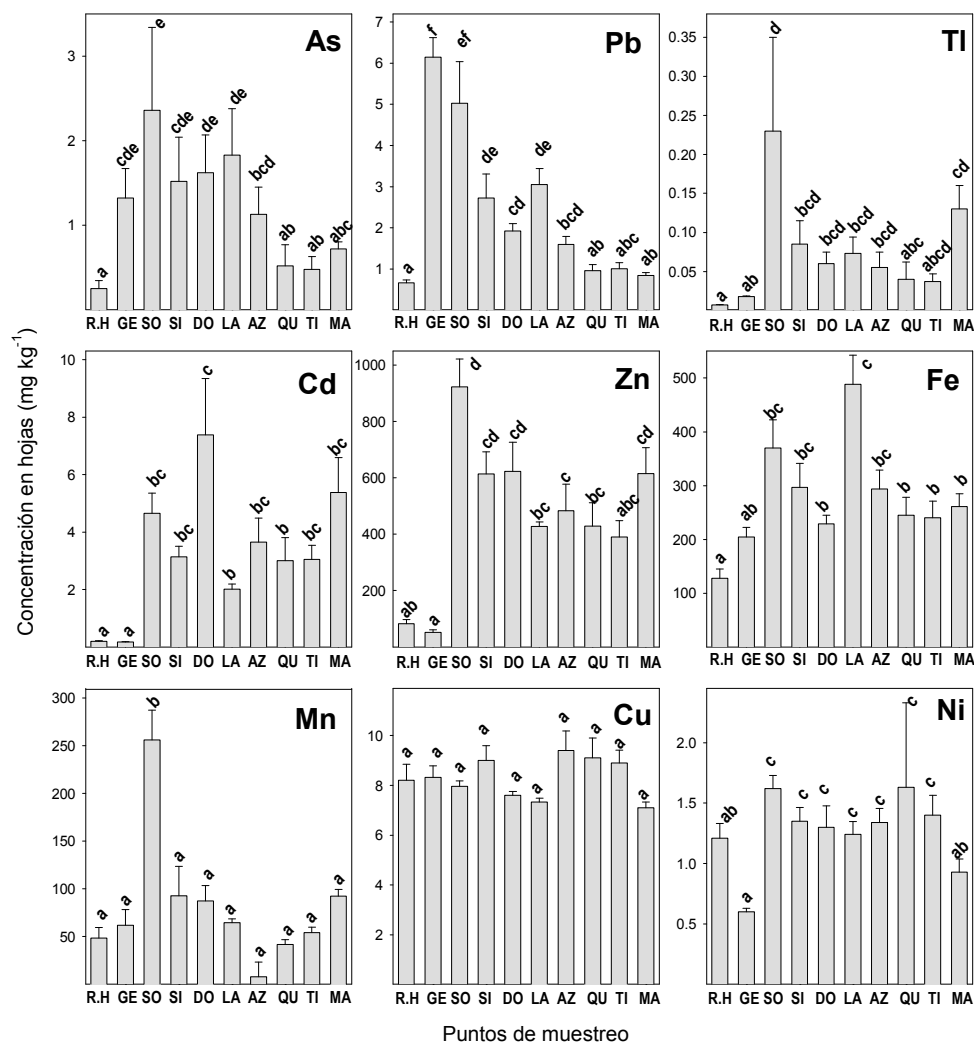
<sup>d</sup> Concentraciones medias (± error estándar) de hojas de *P. nigra* en zonas contaminadas cercanas a hornos de fundición de Pb y Zn según Djingova *et al.* (1999).

<sup>e</sup> Concentración media de hojas de *P. nigra* según Djingova *et al.* (2001).

Las concentraciones de As, TI y Zn en los puntos Soberbina (SI), Doblas (DO) y Aznalcázar (AZ), puntos muy contaminados por el vertido, también resultaron comparativamente altas, aunque sin alcanzar los niveles registrados en SO. Respecto al punto RHU, las diferencias de Pb en estos puntos no resultaron estadísticamente significativas (Fig. 6.3). Sí lo fue, curiosamente, en el caso del punto LA, donde también se registraron concentraciones altas de As y TI, a pesar de que no fue este uno de los puntos más contaminados. Se demostró de nuevo que la absorción de elementos traza por la planta no sólo depende de la concentración de los mismos en el suelo, aunque en los casos de QU y TI (menos



contaminados) sí se produjo cierta correspondencia (concentraciones comparativamente bajas en la hoja, Fig. 6.3).



**Figura 6.3.** Concentración de elementos traza en hojas de álamo en los distintos puntos de muestreo. Las barras indican la media y el error estándar. Diferencias significativas entre los puntos se indican mediante letras distintas ( $p < 0,05$ ).

La presencia de elementos traza en las hojas del álamo puso de nuevo en evidencia que el punto GE tiene una importante contaminación. A pesar de no haber sido afectado por el vertido, las concentraciones de As en los árboles correspondientes fueron comparativamente altas, y en el caso del Pb, las mayores de todas las registradas (Fig. 6.3).

Los incrementos de Cd y Zn en los puntos afectados, respecto a los valores registrados en el punto RHU, fueron mayores, en general, que los obtenidos para As, Pb y Tl, circunstancia que pone en evidencia la importancia que tiene la presencia de estos dos metales en la zona afectada, especialmente significativa la de Cd por su conocida toxicidad para la cadena trófica (Gupta y Gupta, 1998; Wagner, 1993).

Las mayores concentraciones de Cd en hoja correspondieron al punto DO, en concordancia con la mayor disponibilidad potencial de Cd (extracción con EDTA) obtenida en el mismo. Respecto al punto RHU (y también, en este caso, respecto al punto de GE) el Cd fue más de 30 veces superior. La concentración máxima alcanzada ( $13,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ) resultó superior, casi el doble, a la registrada por otros autores en álamos de zonas muy contaminadas (Tabla 6.11), aunque todavía muy distante de la obtenida por Robinson *et al.* (2000),  $200 \text{ mg kg}^{-1}$ , en suelos extremadamente contaminados por Cd.

Las concentraciones de Cd en las hojas de álamo también resultaron comparativamente altas en el punto SO. El punto Marisma (MA) fue otro de los puntos donde se obtuvieron las concentraciones más altas (Fig. 6.3).; este aumento de concentración puede ser debido al aumento de la absorción de Cd inducida por los cloruros en suelos con cierto nivel de salinidad (MacLaughlin, 2002).

Las concentraciones de Zn registradas en los puntos afectados por el vertido fueron, en general, muy altas, especialmente las obtenidas en el punto SO, de carácter ácido, donde se alcanzaron  $1200 \text{ mg kg}^{-1}$  en las hojas de algunos árboles, concentraciones más de 20 veces superiores a las consideradas normales en plantas leñosas (Tabla 6.11).

Las concentraciones de Zn registradas en los puntos Soberbina (SI), Doblas (DO) y Marisma (MA) (alrededor de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$ ) resultaron similares a las obtenidas por Djingova *et al.* (1999) en álamos de zonas muy contaminadas (refinerías de Pb y Zn, Tabla 6.11). Estos resultados corroboran la tendencia del álamo blanco a acumular ambos elementos, tendencia puesta de manifiesto por

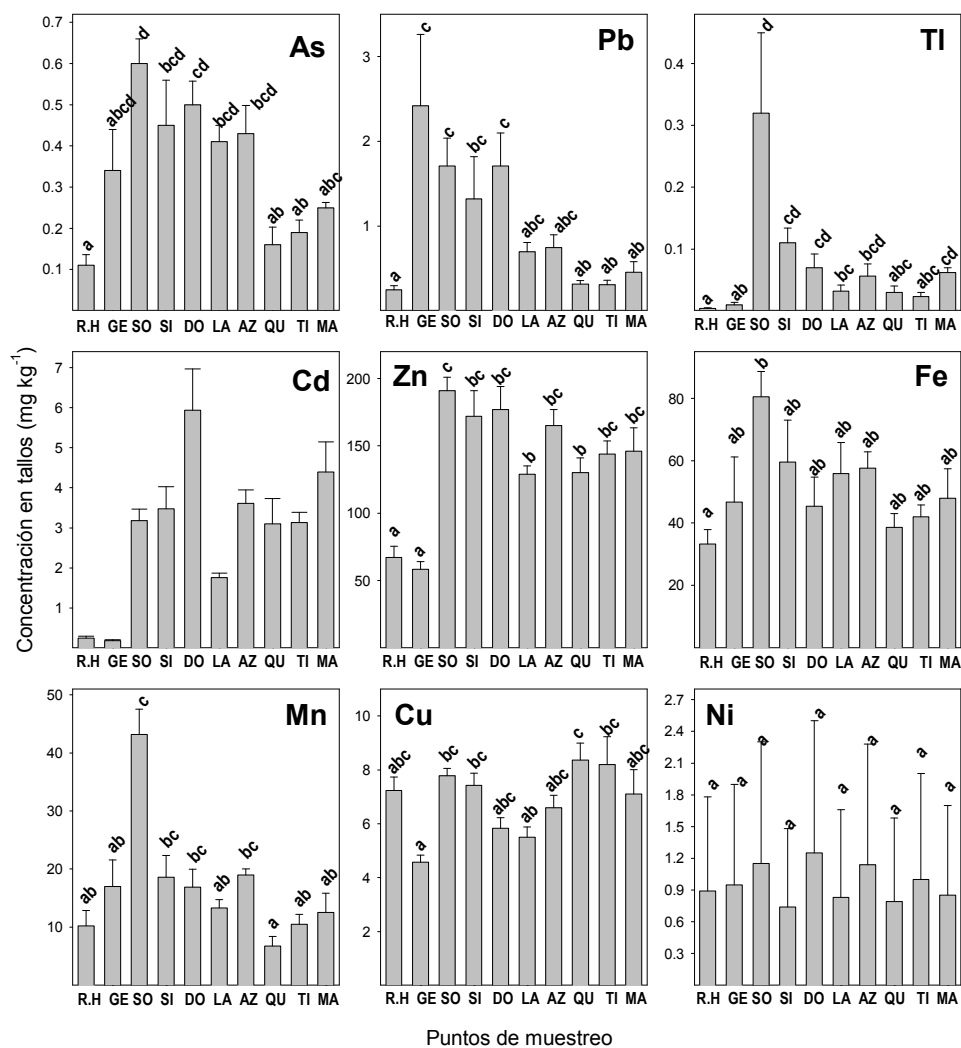
otros autores para especies del mismo género (Sawidis *et al.*, 1995; Robinson *et al.*, 2000). En realidad, se trata de una propiedad (acumulación de Cd y Zn en hojas) que caracteriza a toda la familia de las Salicáceas, ya que también ocurre en el género *Salix* (Mertens *et al.*, 2001; Sawidis *et al.*, 2001; Pugh *et al.*, 2002; Stolz *et al.*, 2002; Vandecasteele *et al.* 2002).

En general, ninguno de los restantes metales analizados en los puntos afectados por el vertido (Fe, Mn, Cu y Ni) alcanzaron concentraciones muy superiores a las obtenidas en los puntos de referencia RHU y GE (el punto de Gerena no presentó contaminación residual por estos metales). Aún así, las concentraciones de Fe resultaron significativamente más altas respecto a RHU, en todos los puntos afectados, y en el caso del Mn sólo fueron significativamente superiores en el punto SO (respecto a RHU y GE). Las concentraciones de Mn resultaron especialmente altas en este punto, debido posiblemente a su carácter ácido, aspecto que no se observó en el caso de la grama (apartado 5.4.2.2) y no a la contaminación residual existente, ya que como indican Kabata-Pendias y Pendias (1992) a pH de 5,5 y más bajos se produce un exceso de Mn disponible para la planta.

Manganeso y Ni no fueron muy abundantes en el vertido, por lo que no es extraño que tuviesen concentraciones bajas en las hojas de los árboles afectados. A pesar de esto, también se obtuvieron concentraciones significativamente más altas en el caso del Ni en todos los puntos afectados (excepto MA) con respecto a los puntos de referencia, RHU y GE.

El Cu sí fue uno de los elementos más abundantes del vertido (hasta 2000 mg kg<sup>-1</sup>; Cabrera *et al.*, 1999), lo que ocasionó concentraciones altas en el suelo, tanto totales como potencialmente disponibles (Tablas 6.5 y 6.8). Sin embargo, no se registraron concentraciones elevadas en las hojas de los árboles afectados, que fueron similares a los obtenidos en los puntos de referencia (Fig. 6.3). Este mismo patrón de comportamiento (concentraciones de Cu comparativamente bajas en los tejidos de la planta) fue descrito en el caso de la grama. Este elemento tiene una movilidad razonablemente baja en los suelos afectados y por otra parte su acumulación en los tejidos vegetales es baja. Esto coincide con los trabajos de Kozlov *et al.* (2000) en abedules, que concluye que sólo una pequeña parte del Cu absorbido por la raíz va a las hojas. A todo esto hay que añadir que concentraciones altas de Zn, como las existentes en los suelos afectados, puede inhibir la absorción de Cu debido al antagonismo Cu-Zn, ocasionada por el hecho

de que ambos elementos estén sujetos al mismo mecanismo de absorción (Kabata-Pendias y Pendias, 1992). Además, la fracción extraída con EDTA (extractante que puede sobrestimar la movilidad del elemento, Vidal *et al.*, 1999) no se correspondería con la fracción que realmente utiliza la planta.



**Figura 6.4.** Concentración de elementos traza en tallos de álamo en los distintos puntos de muestreo. Las barras indican la media y el error estándar. Diferencias significativas entre los puntos se indican mediante letras distintas ( $p < 0,05$ ).

En los tallos, las concentraciones de As, Pb y Tl tuvieron un comportamiento muy similar al observado en las hojas (Fig. 6.4).

Las concentraciones de As y Pb fueron mayores en las hojas que en los tallos, mientras que en el Tl se observó un comportamiento opuesto, las concentraciones tendían a ser algo mayores en los tallos.

As, Pb y Tl parecen acumularse preferentemente en la corteza de los tallos, puesto que la razón de concentraciones en tallos con corteza y descortezados oscilaron en un intervalo de 2 a 6 para el As, de 3 a 11 para el Pb y de 5 a 14 para el Tl (datos no presentados). Aunque la contaminación externa (sobre todo en el caso de As y Pb) pudiera haber influido algo en este hecho, básicamente se debe a una distribución distinta entre corteza y madera, dado que los tallos fueron descontaminados previamente. La corteza, junto con las raíces, puede ser un importante sumidero de elementos traza en plantas leñosas (Dickinson y Lepp, 1998).

Cadmio y Zn en tallos también mostraron un comportamiento similar al observado en las hojas (Fig. 6.4), observándose cierta tendencia a su acumulación en la corteza con un intervalo de 2 a 4 (Cd) y de 2 a 3 (Zn) para la razón de concentraciones de tallos con corteza y descortezados (datos no presentados), aunque esta acumulación no resultó tan acusada como en el caso de As, Pb y Tl.

Por las razones indicadas anteriormente, las concentraciones de Fe, Mn, Cu y Ni de los tallos de los árboles afectados no experimentaron cambios importantes respecto a los registrados en los árboles de los puntos de referencia, excepto el Fe (respecto a GE) y Mn (respecto a RHU, GE y otros puntos afectados) en el punto SO, consecuencia de su carácter ácido.

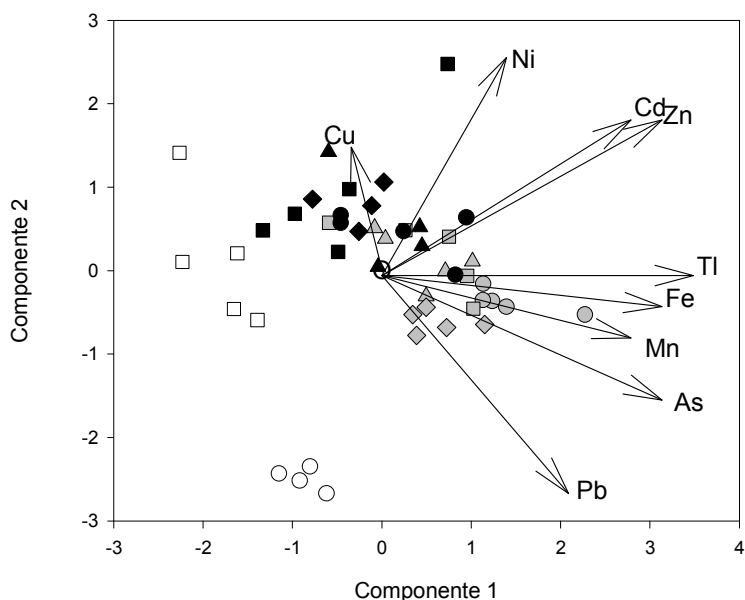
En el caso del Cu, no se observó una tendencia clara a acumularse en la corteza, al contrario de lo obtenido por otros autores para otras especies leñosas (Lepp, 1981; Dickinson y Lepp, 1998). En este caso puede haber influido el hecho de que bajo nuestras condiciones, la absorción de Cu por la planta resultó comparativamente baja.

### ***6.5.3. Tendencias de variación en la concentración foliar de elementos traza***

La tendencia de variación de la concentración de los nueve elementos traza en las hojas de álamo se muestra en el análisis de las componentes principales (ACP) de la figura 6.5.

La contaminación producida por el vertido definió la tendencia de la primera componente (52 % de la varianza) y estuvo asociada al incremento de concentraciones de Tl, As, Zn, Fe, Cd, Mn, Pb (por este orden de coeficiente). La segunda componente (18 % de la varianza) estuvo asociado principalmente a Ni, Cd, Zn y Cu (Fig. 6.5).

La distribución de las hojas de álamo de acuerdo con el primer componente del análisis ACP refleja el principal gradiente de contaminación; por un lado separa los dos grupos de árboles que crecían fuera de la influencia del vertido (parte negativa); en contraste, los árboles de los puntos SO, DO, LA, AZ se separan en la parte derecha de la gráfica (Figura 6.5). Los árboles de los puntos MA, SI, TI y QU aparecen distribuido a lo largo de todo el gradiente, mostrando una vez más la heterogeneidad de la contaminación y posterior absorción por las de los elementos traza.



**Figura 6.5.** Análisis de componentes principales de las concentraciones de las hojas de los nueve elementos traza estudiados. Los símbolos de cada uno de los puntos se corresponden con: □ RHU, ○ GE, ● SO, ■ DO, ▲ AZ, ▼ AZ, ● QU, ■ MA, ▲ TI y ▼ SI. Los vectores indican los coeficientes (multiplicados por cinco por claridad) de los elementos traza.

La tendencia de variación de los nueve elementos traza en hojas de álamo, como muestra el análisis de componentes principales tuvo similitudes y diferencias con las obtenidas en los suelos. La diferencia entre ambos análisis estriba en los elementos traza asociados a cada una de las dos componentes, mucho más definida en los suelos que en las plantas (Figs. 6.2 y 6.5).

Esta diferencia de patrones entre la concentración de elementos traza en la vegetación y en los suelos han sido también obtenidas en otros estudios (Markert, 1987). Interacciones entre los elementos pueden originar procesos antagónicos o sinérgicos en la absorción de estos elementos por la planta. Estas interacciones pueden afectar la absorción y posterior transporte dentro de la planta de un elemento independientemente de su biodisponibilidad en el suelo. Hay que tener en cuenta que otros factores, además de la contaminación del suelo, tales como deposición atmosférica en la superficie de la hoja, tejido de estudio, estado de desarrollo de la planta, capacidad específica de cada planta para la absorción, translocación y compartimentalización de los elementos traza, pueden contribuir a las diferencias entre la bioacumulación de los suelos y plantas (Bargagli, 1998).

## **6.6. PLANTAS: VARIABILIDAD TEMPORAL EN LA CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS MINERALES**

A diferencia de la grama, el álamo blanco permite la monitorización de las hojas y tallos de los mismos árboles en el tiempo; además, hay que tener en cuenta que al ser un árbol de hoja caduca, las muestras tomadas cada año se corresponden con las concentraciones de hojas acumuladas a lo largo de ese año. De este modo se puede ir analizando la evolución de los nutrientes y elementos traza en un período de tiempo.

Las concentraciones de nutrientes y elementos traza que se presentan en este apartado corresponden a los muestreos de otoño de los años 1999, 2000 y 2001.

Se trata de los datos relativos a los seis puntos de muestreo (GE, SO, DO, LA, AZ y QU) que fueron muestreados en los tres años mencionados. También se han utilizado, junto a estos datos, los relativos al punto de referencia externo a la cuenca RHU (a pesar de que no fue muestreado en el año 1999) en vista de la contaminación residual detectada en Gerena.

### **6.6.1. Variabilidad interanual de nutrientes**

Los nutrientes básicos N, P y K en la hoja de álamo presentaron un comportamiento diferente en los tres años estudiados (Fig. 6.6); este comportamiento no coincide con el paralelismo notable en la evolución de los tres elementos encontrado para la grama (Fig. 5.11).

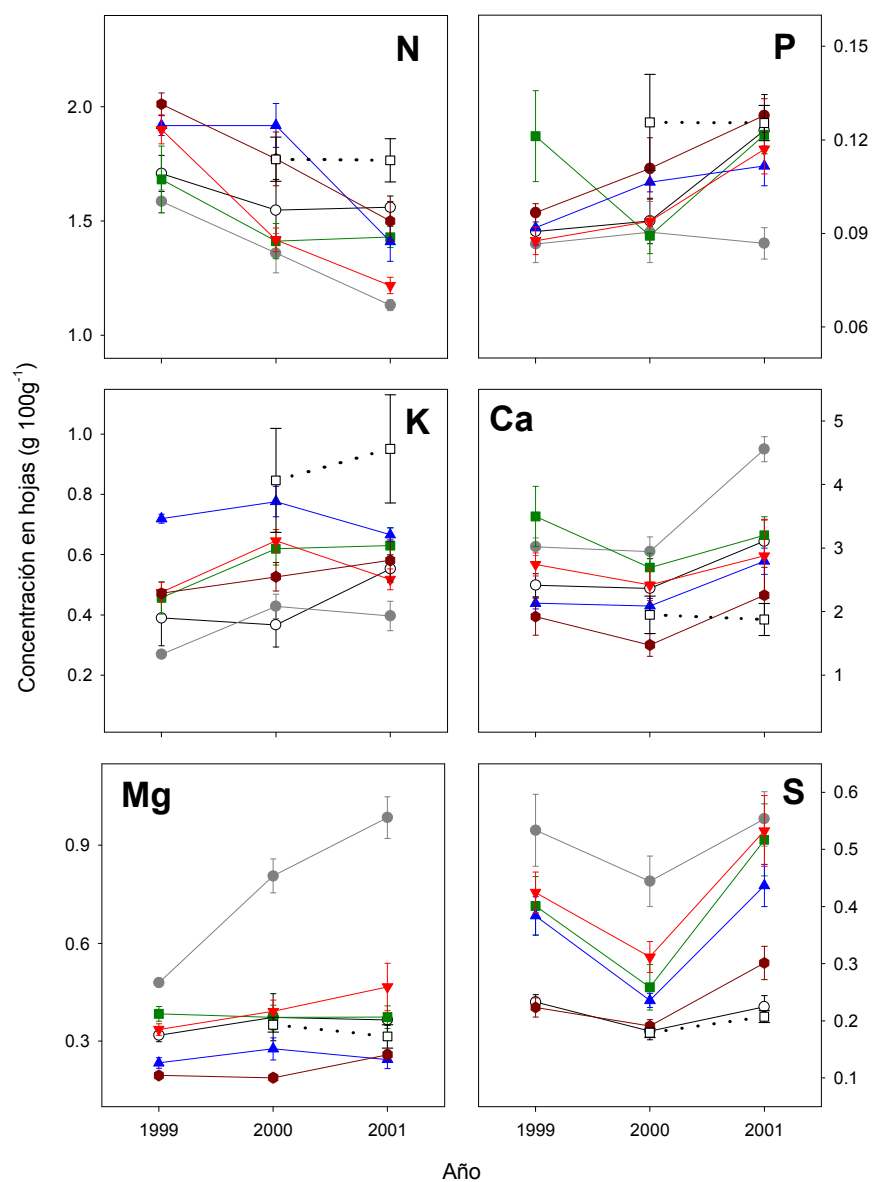
La evolución de las concentraciones de N de las hojas de los álamos consistió en un descenso significativo a lo largo de los tres años de estudio en los puntos SO, LA, AZ y QU; mientras que se mantuvieron en los dos puntos de referencia (Tabla 6.12; Fig. 6.6). De los árboles afectados, los descensos de N fueron progresivos en la mayoría de los casos.

En el tercer año de estudio las concentraciones de N de los árboles de los puntos afectados fueron más bajas que los registrados en los puntos de referencia (GE y especialmente RHU), aspecto que ha sido discutido en el apartado anterior (6.3.2); en los dos años anteriores no se produjo esta circunstancia, al haberse registrado concentraciones similares, e incluso más altas, en algunos puntos afectados que en los puntos de referencia (Fig. 6.6). Según estos resultados parece interesante seguir muestreando estos mismos árboles para comprobar si los descensos de N obedecen a una acción progresiva del lodo residual, o si se trata simplemente de fluctuaciones anuales.

En el caso del P se obtuvieron diferencias significativas entre años en los dos puntos de referencia y en Lagares (LA), Aznalcázar (AZ) y Quema (QU) (Tabla 6.12). Estas concentraciones de P tendían a aumentar en algunos puntos, desde el primer al tercer año, manteniéndose al mismo nivel en otros.

Las concentraciones de K presentaron diferencias significativas entre años en SO y AZ (Tabla 6.12). En el punto de referencia, RHU, se produjeron aumentos significativos (Fig. 6.6).





**Figura 6.6.** Evolución de los nutrientes N,P,K, Ca, Mg y S en hojas de álamo en siete puntos de muestreo: □ RHU, ○ GE, ● SO, ■ DO, ▲ LA, ▼ AZ y ● QU. Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ , excepto GE en los años 2000 y 2001  $n = 4$ ).

**Tabla 6.12.** Valores F y p del ANOVA entre los tres años de estudio para los contenidos de nutrientes en las hojas de álamo. Valores medios y error estándar en Fig. 6.6.

Punto	ANOVA	N	P	K	Ca	Mg	S
RHU	F	13,52	6,09	<b>5,59</b>	1,76	0,150	0,105
	p	0,006	0,039	<b>0,04</b>	0,221	0,708	0,754
				<b>6</b>			
GE	F	0,98	4,90	1,61	1,54	0,55	3,05
	p	0,408	0,033	0,247	0,261	0,595	0,092
SO	F	14,54	0,088	5,16	22,4	28,72	1,24
	p	0,001	0,916	0,024	0,000	0,000	0,320
DO	F	2,33	3,69	2,99	1,37	0,38	6,09
	p	0,139	0,057	0,088	0,291	0,962	0,015
LA	F	13,98	3,92	2,79	7,22	0,703	12,29
	p	0,001	0,049	0,101	0,009	0,514	0,001
AZ	F	46,86	8,55	6,52	0,395	1,88	6,22
	p	0,000	0,005	0,012	0,682	0,195	0,014
QU	F	8,26	5,49	1,27	1,48	10,84	7,80
	p	0,006	0,021	0,316	0,266	0,002	0,007

Las concentraciones de P y K siempre fueron más bajas que las registradas en el punto de referencia RHU (en los dos últimos años). El punto de GE, por el contrario se comportó como uno más de los afectados, especialmente en el caso del K, cuyas concentraciones resultaron con frecuencia del mismo orden, e incluso más bajas, que las obtenidas en muchos de los puntos afectados (Fig. 6.6). Además de posibles variaciones anuales de variables no controladas, la características texturales de los suelos de este punto, más arenoso, pudieron influir en las concentraciones comparativamente bajas de P y K registradas en los árboles correspondientes; en este sentido los resultados obtenidos en el punto RHU resultan más adecuados, a efectos comparativos, debido a su mayor similitud textural con los puntos afectados por el vertido.

Los patrones evolutivos de Ca y Mg fueron algo similares, con diferencias significativas entre años en Soberbina (SO) y Lagares (LA) para el Ca, y en SO y Quema (QU) para Mg.

Las concentraciones de ambos elementos resultaron, en general, similares, excepto en el punto de SO (de pH ácido, y concentraciones más altas de

elementos traza potencialmente disponibles; Fig. 6.6). En este punto la concentración de Ca aumentó significativamente en el tercer año de estudio, respecto a los dos anteriores y la concentración de Mg en los dos últimos años, respecto al primero (Tabla 6.12).

Respecto al punto de referencia RHU, las concentraciones de Ca en hoja en 2001 fueron mayores en todos los puntos afectados por el vertido (y punto GE), circunstancia que también fue observada en el caso de la grama. Se trata de un aspecto positivo, teniendo en cuenta el papel "protector" del Ca ante la situación de estrés creada por los elementos traza. Sólo en el caso del punto QU (año 2000) se obtuvo una concentración de Ca ligeramente más baja que la del punto RHU, en lo que pudo influir la contaminación residual de este punto, comparativamente baja.

Las concentraciones de Mg tendían a ser más altas en los puntos afectados por el vertido, SO, AZ y DO, respecto a los puntos de referencia RHU y GE. En puntos algo menos contaminados, como LA y QU, se obtuvieron concentraciones de Mg similares, o más bajas que las obtenidas en los puntos de referencia.

En la evolución del S se obtuvieron diferencias significativas entre años en los puntos DO, LA, AZ y QU. En general las concentraciones de S experimentaron un ligero descenso en el segundo año de estudio, y luego aumentaron en el tercer año. En el punto QU se registró un aumento significativo de S en el último año de estudio, respecto al primero (Fig. 6.6, Tabla 6.12).

Las concentraciones de S en hojas fueron mayores en los puntos afectados por el vertido, donde aumentó fuertemente la concentración total de este elemento (Tabla 6.4), respecto de los controles. Como en el caso del Ca y Mg, los incrementos de S en la hoja fueron mayores en el punto SO, más contaminado y de carácter ácido. Respecto al punto de referencia RHU, la concentración de S en SO fue unas 2,5 veces mayores en los años 2000 y 2001. Aun así, estas concentraciones se mantuvieron dentro de límites razonables (el contenido normal en plantas superiores oscila entre 0,1 % y 0,5 %, Marschner, 1995)

Las concentraciones de nutrientes en los tallos presentaron mayores diferencias de unos puntos a otros para un mismo año, aunque en general no presentaron variaciones interanuales importantes (datos no presentados).

Destacar únicamente que las tendencias potencialmente atribuibles a la presencia de elementos traza no se manifestaron de manera tan clara como en las

hojas. Las concentraciones de N no mostraron un comportamiento definido, y las de K sólo resultaron más bajas en algunos de los puntos afectados.

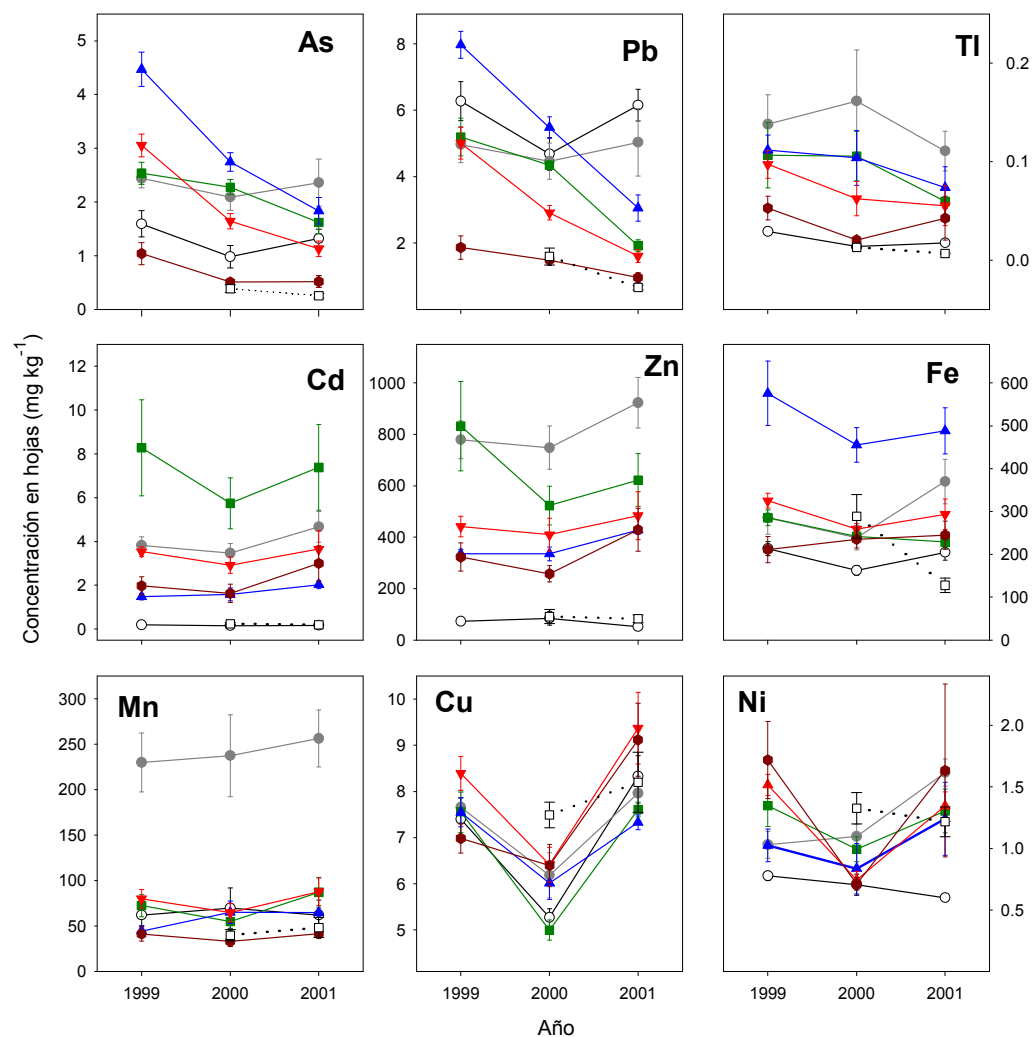
#### **6.6.2. Variabilidad interanual de elementos traza**

La evolución de elementos traza presentó un patrón evolutivo algo más definido que el de los macronutrientes (Fig. 6.7). Este comportamiento coincidiría con el descrito por Djingova *et al.* (1996), quienes obtuvieron variaciones hasta de un 40 % entre años (zonas contaminadas y no contaminadas) en la concentración de nutrientes y elementos traza; variaciones que podían ser atribuidas a diferencias espacio-temporales de clima y suelo.

De los elementos traza estudiados, sólo se observaron claros descensos de concentración en hoja, a lo largo de los tres años de estudio, para As y Pb, con diferencias significativas en los puntos DO (del segundo al tercer año de estudio), AZ y LA (con descensos significativos del primer al segundo año y del segundo al tercer año de estudio), y QU (Tabla 6.13). Estos descensos no se observaron en el suelo ácido del punto SO, que parece tener una dinámica diferente. En el estudio de la grama se obtuvo un patrón evolutivo similar para estos dos elementos.

Los valores tan altos de As y Pb obtenidos en el primer año de estudio (en el álamo, y en una planta tan diferente como la grama) pudieron estar influenciadas por la notable contaminación atmosférica (externa) que debieron generar las densas nubes de polvo ocasionadas por las labores de limpieza (Querol *et al.*, 1999, Madejón *et al.*, 2003). Además de contaminar las muestras, pudieron potenciar la absorción de ambos elementos por vía foliar (Reiman *et al.*, 2001) al ser muy abundantes en las partículas de suelo y lodo, suspendidas en el aire.

Cadmio y Zn presentaron un patrón evolutivo bastante similar, manteniéndose sus concentraciones similares, dentro de cada punto, a lo largo de los tres años de estudio (Fig. 6.7). Las pequeñas diferencias interanuales de concentración observadas, no resultaron, en general, significativas (Tabla 6.13).



**Figura 6.7.** Evolución de los elementos traza en hojas de álamo blanco en siete puntos de muestreo:  $\square$  RHU,  $\circ$  GE,  $\bullet$  SO,  $\blacksquare$  DO,  $\blacktriangle$  LA,  $\blacktriangledown$  AZ y  $\bullet$  QU. Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ , excepto GE en los años 2000 y 2001  $n = 4$ ).

Las concentraciones de Cd y Zn resultaron altas, en general, en los puntos afectados, consecuencia de los importantes contenidos de ambos elementos presentes en el vertido, especialmente de Zn (Cabrera *et al.*, 1999). El patrón evolutivo del Cu fue parecido tanto en los puntos afectados por el vertido como en

los no afectados, con una clara tendencia a la aparición de concentraciones más bajas en el año 2000, cuyas diferencias con las obtenidas en los años 1999 y 2001 resultaron significativas en la generalidad de los casos (Fig. 6.7, Tabla 6.13). Su evolución fue muy similar al observado en el caso de la grama, lo que parece indicar que durante el año 2000 las condiciones edafo-climáticas pudieron limitar consistentemente la movilidad de este elemento en el suelo, ya de por sí baja.

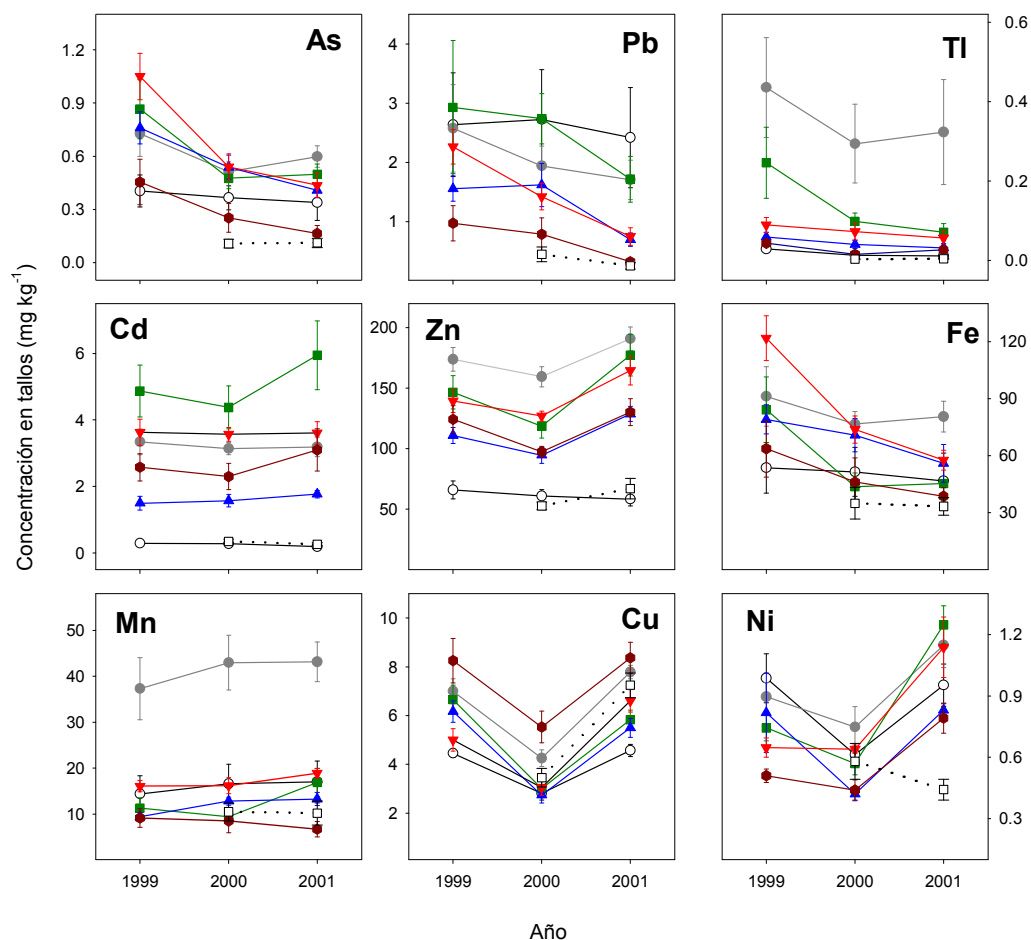
Las concentraciones de Fe y Mn se mantuvieron constantes, sin diferencias significativas durante los tres años de estudio, salvo en el punto RHU para el Fe (Tabla 6.13). En general, las concentraciones de Fe de los árboles afectados por el vertido resultaron más altas que las detectadas en los puntos no afectados, GE y RHU, en el año 2001. Destacaron las altas concentraciones de Fe en el punto LA y las de Mn en SO (Fig. 6.7).

**Tabla 6.13.** Valores de F y p del ANOVA entre los tres años de estudio para los contenidos de elementos traza en las hojas de álamo. Valores medios y error estándar en Fig. 6.7.

Punto	ANOVA	As	Pb	Tl	Cd	Zn	Fe	Mn	Cu	Ni
RHU	F	2,45	12,99	39,90	0,50	0,073	9,152	0,433	1,00	0,395
	p	0,156	0,007	0,000	0,480	0,794	0,016	0,529	0,346	0,547
GE	F	1,97	2,60	14,6	0,64	0,81	3,02	0,068	13,70	2,78
	p	0,190	0,123	0,001	0,547	0,471	0,940	0,935	0,001	0,110
SO	F	0,34	0,18	0,066	1,34	1,18	2,63	0,14	6,96	9,15
	p	0,716	0,837	0,937	0,298	0,340	0,110	0,873	0,010	0,004
DO	F	6,37	23,25	1,08	0,49	1,60	3,86	1,53	24,5	1,57
	p	0,013	0,000	0,372	0,622	0,240	0,051	0,256	0,000	0,247
LA	F	27,88	42,12	0,84	1,86	6,62	1,14	2,08	8,32	6,42
	p	0,000	0,000	0,456	0,198	0,012	0,350	0,170	0,005	0,013
AZ	F	35,34	24,28	1,65	0,52	0,286	1,93	0,95	7,72	19,33
	p	0,000	0,000	0,232	0,605	0,756	0,188	0,414	0,007	0,000
QU	F	4,97	3,65	1,24	1,53	2,08	0,36	0,59	6,60	1,58
	p	0,027	0,058	0,322	0,257	0,168	0,702	0,569	0,012	0,246

El patrón evolutivo del Ni se asemejó en cierta medida al del Cu en los puntos afectados por el vertido, al descender las concentraciones desde el primer al segundo año, aumentando posteriormente, significativamente, en la generalidad de los casos (Fig. 6.7 y Tabla 6.13). Por el contrario, en los dos puntos no

afectados por el vertido, las concentraciones de este elemento presentaron un patrón siempre descendente.



**Figura 6.8.** Evolución de los elementos traza en tallos de álamo blanco en siete puntos de muestreo: □ RHU, ○ GE, ● SO, ■ DO, ▲ LA, ▼ AZ y ● QU. Valores medios  $\pm$  error estándar (n = 5, excepto GE en los años 2000 y 2001 n = 4).

Aunque las hojas son mejores indicadoras de la contaminación del suelo, los tallos también reflejaron, en cierta medida, los efectos del vertido. En líneas generales, puede decirse que la concentración de elementos traza en hojas y tallos siguió un patrón evolutivo razonablemente similar (Figs. 6.7 y 6.8).

Las concentraciones de As y Pb mostraron cierta tendencia a descender con el tiempo, aunque con un patrón menos definido que en el caso de las hojas. Descensos significativos sólo los hubo en los puntos de LA (para As) y AZ (para As y Pb) (Fig. 6.8; Tabla 6.14). Como en el caso de las hojas, los tallos también reflejaron la contaminación residual por As y Pb existente en el punto de GE, a pesar de no haber sido afectado por el vertido. Por el contrario, las concentraciones de ambos elementos siempre fueron las más bajas en el punto RHU (Fig. 6.8).

**Tabla 6.14.** Valores de F y p del ANOVA entre los tres años para estudio de los contenidos de elementos traza en los tallos de álamo. Valores medios y error estándar en Fig. 6.8.

Punto	ANOVA	As	Pb	Tl	Cd	Zn	Fe	Mn	Cu	Ni
RHU	F	13,00	27,6	82,25	0,043	0,727	25,36	19,73	0,85	1,84
	p	0,007	0,001	0,000	0,842	0,419	0,001	0,002	0,678	0,212
GE	F	0,14	0,03	14,6	3,55	0,37	0,065	0,115	18,22	4,30
	p	0,871	0,97	0,001	0,068	0,699	0,937	0,892	0,000	0,045
SO	F	1,50	0,80	0,39	0,12	2,84	0,482	0,33	23,0	4,61
	p	0,262	0,476	0,689	0,884	0,098	0,629	0,725	0,000	0,033
DO	F	4,11	0,801	2,97	0,92	4,46	3,62	3,15	17,85	23,8
	p	0,044	0,472	0,089	0,424	0,036	0,059	0,080	0,000	0,000
LA	F	6,72	4,14	1,65	0,64	7,04	1,45	3,68	22,08	4,09
	p	0,011	0,043	0,233	0,543	0,009	0,216	0,057	0,000	0,044
AZ	F	11,84	10,92	0,68	0,011	4,45	15,35	1,39	18,34	10,02
	p	0,001	0,002	0,525	0,989	0,036	0,000	0,290	0,000	0,003
QU	F	2,63	2,02	3,12	0,67	3,43	1,23	0,36	4,66	11,49
	p	0,113	0,175	0,081	0,521	0,066	0,327	0,705	0,032	0,002

El Tl no experimentó variaciones temporales significativas en los puntos afectados (Tabla 6.14), de forma similar a lo observado en las hojas. Sólo en los puntos DO y SO se observó una tendencia al descenso algo más acusada en los primeros años, aunque las diferencias no resultaron significativas. Como en las hojas, destacan los valores comparativamente altos registrados en el punto SO, ácido, circunstancia que corrobora la necesidad de continuar monitorizando este elemento en este tipo de suelos, especialmente.



Cd y Zn, tuvieron un comportamiento bastante similar al observado en las hojas; dentro de un orden de magnitud razonablemente similar en el caso de las concentraciones de Cd y mucho más bajas en tallos que en hojas en el caso del Zn. Sólo se observaron variaciones temporales de concentración significativas para el Zn, en los puntos DO, LA y AZ (Tabla 6.14).

Ambos elementos mostraron una ligera tendencia al ascenso del segundo al tercer año, especialmente el Zn, que en términos de biodisponibilidad para la planta denota una presencia todavía efectiva en la zona afectada, aspecto que también fue reflejado por las hojas. Las concentraciones de ambos elementos en los suelos afectados siempre fueron considerablemente más altas que las registradas en los puntos no afectados (GE y RHU, Fig. 6.8).

Las concentraciones de Fe en tallos resultaron similares en los puntos no afectados por el vertido, en los tres años de estudio, mientras que mostraron cierto patrón descendente en los puntos afectados, excepto en SO. El descenso resultó más acusado, en algunos puntos, de 1999 a 2000, en lo que pudo influir una mayor contaminación atmosférica con polvo durante el primer año (Fig. 6.8).

Las concentraciones de Mn fueron, en general, bastante similares en los tres años de estudio; patrón observado también en el caso de la hojas (Figs. 6.7 y 6.8). Como en el caso de esta fracción, volvieron a registrarse valores especialmente altos en el punto SO, de carácter ácido.

Las concentraciones de Cu y Ni también mostraron un comportamiento bastante similar al observado para las hojas, con descensos iniciales (1999 a 2000) y un aumento posterior (2000 a 2001), especialmente acusado en el caso del Ni, con diferencias que resultaron significativas en los puntos más contaminados (SO, DO y AZ) (Fig. 6.8). Este aumento del Ni, elemento ausente del vertido, podría estar asociado al descenso de elementos contaminantes que tuvieran interacciones antagónicas.

### **6.6.3. Variabilidad de acumulación de elementos traza entre hojas y tallos**

Con el fin de analizar la acumulación preferencial de elementos traza en hoja y tallo, en el presente apartado se recogen las razones de concentración entre fracciones (hoja/tallo) para cada uno de los elementos estudiados. Los datos presentados corresponden al primer y último año de estudio.

Los valores de esta razón para As y Pb fueron siempre claramente superiores a la unidad, especialmente en los puntos afectados por el vertido más contaminados (como SO, DO, LA y AZ) e incluso en el punto GE, donde la concentración de As y Pb fue notoria. La planta tendería a acumular en las hojas viejas el aporte excesivo de ambos elementos, lo que podría contemplarse como un mecanismo de detoxificación. Los árboles caducifolios, como el álamo, acaban perdiendo las hojas (y con ellas el exceso de As y Pb) al final del otoño (Ernst et al, 1992).

**Tabla 6.15.** Razón entre la concentración de hojas y concentración de tallos de As, Pb, Tl, Cd y Zn de los puntos muestrados en los años 1999 (excepto RHU, SI, TI y MA) y 2001.

Punto	Año	As	Pb	Tl	Cd	Zn
RHU	2001	2,5 ± 0,3	3,1 ± 0,7	2,2 ± 0,6	0,8 ± 0,06	1,3 ± 0,3
	1999	4,6 ± 0,8	4,8 ± 2,0	1,0 ± 0,1	0,7 ± 0,1	1,0 ± 0,1
GE	2001	4,4 ± 0,6	3,8 ± 1,4	2,2 ± 0,6	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1
	1999	3,8 ± 0,7	2,8 ± 1,0	0,5 ± 0,07	1,2 ± 0,08	4,5 ± 0,2
SO	2001	3,9 ± 0,4	3,4 ± 0,8	0,6 ± 0,06	1,5 ± 0,10	4,8 ± 0,4
	1999	3,8 ± 0,5	2,8 ± 0,5	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,1	3,6 ± 0,2
SI	2001	3,3 ± 0,5	2,5 ± 0,6	0,6 ± 0,1	1,6 ± 0,2	5,5 ± 0,8
	1999	3,3 ± 0,3	1,3 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,1	3,5 ± 0,4
DO	2001	6,1 ± 0,6	5,5 ± 0,7	2,0 ± 0,2	1,0 ± 0,06	3,0 ± 0,1
	1999	4,5 ± 0,3	4,5 ± 0,3	2,5 ± 0,2	1,1 ± 0,09	3,4 ± 0,2
LA	2001	3,0 ± 0,7	2,4 ± 0,4	1,1 ± 0,10	1,0 ± 0,01	3,2 ± 0,3
	1999	2,7 ± 0,3	2,0 ± 0,8	1,0 ± 0,09	1,0 ± 0,2	2,9 ± 0,5
AZ	2001	2,8 ± 0,5	2,6 ± 0,6	1,2 ± 0,07	0,7 ± 0,05	2,5 ± 0,3
	1999	3,5 ± 0,5	3,0 ± 0,2	1,5 ± 0,02	0,9 ± 0,1	3,2 ± 0,6
QU	2001	2,7 ± 0,3	3,3 ± 0,5	2,0 ± 0,4	1,0 ± 0,1	2,8 ± 0,5
	1999	2,9 ± 0,3	2,0 ± 0,4	2,0 ± 0,3	1,2 ± 0,15	4,2 ± 0,5
TI	2001					
MA	2001					

Los valores de esta razón para el Tl parecen indicar que cuando la contaminación del suelo es alta, y la planta dispone de cantidades mayores del elemento, la distribución del mismo entre hojas y tallos es más homogénea, oscilando la razón alrededor de la unidad (en ocasiones, la concentración Tl fue ligeramente superior en los tallos) (Tabla 6.15). En los puntos donde la contaminación en suelo fue menor, LA, QU y TI, y por supuesto los dos que no fueron afectados por el vertido, GE y RHU, la razón tiende a ser mayor que la

unidad, aunque con excepciones a este comportamiento general: en el punto GE la razón fue igual a uno en 1999 y en el punto MA, apreciablemente contaminado, alcanzó el valor de dos.

El Cd también mostró una distribución similar entre hojas y tallos, siendo la razón ligeramente superior a la unidad en los puntos afectados por el vertido y ligeramente inferior en los puntos GE y RHU (no afectados) y QU (el punto menos contaminado de los afectados).

Estos resultados parecen indicar que ante una mayor disponibilidad de Cd, el álamo puede acumular algo más en la hoja, aún siendo todavía importante la acumulación en tallos. Así Eriksson y Ledin (1999) obtuvieron niveles de acumulación de Cd similares en hojas y tallos en árboles del género *Salix*. Es posible que esta especie no requiera un mecanismo de detoxificación tan explícito para este elemento, como en el caso de As y Pb, debido a la tolerancia comparativamente alta de las plantas al Cd, fielmente reflejada por el intervalo de fitotoxicidad para el mismo: 5-700 mg kg<sup>-1</sup> (Chaney, 1989; Adriano, 1986).

El Zn, como As y Pb, presentó una acumulación preferencial en hojas en los puntos afectados por el vertido, donde la disponibilidad fue mucho mayor que la de los no afectados (GE y RHU). En estos últimos la razón osciló alrededor de la unidad. Además de la facilidad con que este elemento puede ser transportado hacia las hojas, donde tiende a acumularse en la madurez (Kabata-Pendias y Pendias, 1992), su acumulación en hojas viejas podría representar un mecanismo de detoxificación de Zn ante elevadas concentraciones en el medio, similar al descrito para As y Pb.

En el caso de elementos como Fe y Mn, los valores de las razones correspondientes siempre fueron claramente superiores a la unidad (Tabla 6.16), indicando una acumulación preferencial en la hoja. Este hecho podría estar relacionado con el papel desarrollado por ambos elementos en la fotosíntesis, además de que tanto el Fe como el Mn tienden a acumularse en hojas "viejas" (Kabata-Pendias y Pendias, 1992); en este caso se han analizado hojas de otoño, justo antes de la caída.

El patrón de distribución del Cu resultó bastante homogéneo entre hojas y tallos (razones próximas a la unidad, Tabla 6.16) en concordancia con el comportamiento normal de este elemento, que tiende a distribuirse por igual en toda la planta (Kabata-Pendias y Pendias, 1992). De cualquier forma, teniendo en cuenta que el intervalo de fitotoxicidad para el Cu es bastante reducido, (25-40 mg

kg<sup>-1</sup>, Chaney, 1989), hubiese sido interesante comprobar su patrón de distribución bajo condiciones de mayor biodisponibilidad, que hubiesen ocasionado mayores concentraciones en los tejidos de la planta.

**Tabla 6.16.** Razón entre la concentración de hojas y concentración de tallos de Fe, Mn, Cu y Ni de los puntos muestrados en los años 1999 (excepto RHU, SI, TI y MA) y 2001.

Punto	Año	Fe	Mn	Cu	Ni
RHU	2001	3,9 ± 0,2	5,0 ± 0,4	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2
GE	1999	4,8 ± 0,9	4,7 ± 0,6	1,7 ± 0,1	0,85 ± 0,1
	2001	5,5 ± 1,2	3,9 ± 0,7	1,8 ± 0,1	0,3 ± 0,03
SO	1999	3,6 ± 1,0	5,7 ± 1,0	1,1 ± 0,04	1,1 ± 0,1
	2001	4,6 ± 0,5	6,0 ± 0,4	1,0 ± 0,05	1,4 ± 0,1
SI	2001	5,4 ± 0,5	4,6 ± 0,7	1,2 ± 0,09	1,8 ± 0,4
DO	1999	3,8 ± 0,6	6,6 ± 0,9	1,2 ± 0,1	1,8 ± 0,2
	2001	5,7 ± 0,9	5,2 ± 0,7	1,3 ± 0,1	2,2 ± 0,8
LA	1999	7,6 ± 1,4	4,7 ± 0,5	1,2 ± 0,07	1,5 ± 0,3
	2001	9,5 ± 1,4	5,0 ± 0,3	1,3 ± 0,08	1,0 ± 0,2
AZ	1999	2,7 ± 0,3	5,0 ± 0,5	1,7 ± 0,2	2,4 ± 0,3
	2001	5,0 ± 0,2	4,6 ± 0,6	1,4 ± 0,1	1,6 ± 0,1
QU	1999	3,8 ± 0,5	4,7 ± 0,3	0,9 ± 0,09	3,3 ± 0,4
	2001	6,3 ± 0,2	7,7 ± 1,7	1,1 ± 0,2	2,0 ± 1,3
TI	2001	6,0 ± 1,0	5,4 ± 0,6	1,1 ± 0,1	1,8 ± 0,3
MA	2001	5,7 ± 0,7	8,3 ± 2,0	1,0 ± 0,2	1,2 ± 0,3

El patrón de distribución del Ni mostró su acumulación preferencial en la hoja, aunque hubo excepciones como en GE, en los que incluso la razón llegó a ser inferior a la unidad.

## 6.7. POTENCIAL DEL ÁLAMO BLANCO COMO PLANTA BIOINDICADORA

Los árboles, y sobre todo sus hojas, han sido frecuentemente utilizados como biomonitores de la concentración de elementos traza en el medio ambiente (Lau y Luk, 2001; Moraes *et al.*, 2003). Las hojas de álamo, y en general de la familia *Salicáceas* (álamos y sauces), se han utilizado con este fin por diversos

autores (Djingova *et al.*, 1995,1996, 1999, 2001; Sawidis *et al.*, 1995; Stratis *et al.*, 1996; Bargagli, 1998; Robinson *et al.*, 2000; Madejón *et al.*, 2004 ). Los tallos, aunque en menor medida, también han sido usados para la monitorización de la contaminación (Böhn *et al.*, 1998), aunque en general las hojas de las plantas son las que mejor reflejan la contaminación, porque son más sensibles a los efectos de elementos traza que las flores, frutos y otros órganos (Bargagli, 1998).

La Tabla 6.17 recoge los coeficientes de correlación obtenidos para la relación existente entre las concentraciones de elementos traza en las hojas y tallos del álamo y las correspondientes concentraciones de elementos disponibles en el suelo (extracción con EDTA) y transformadas logarítmicamente. Se han considerado únicamente los resultados correspondientes al otoño del año 2000, primer año en el que pudo realizarse un muestreo completo de la cuenca.

De las 32 correlaciones obtenidas, 21 resultaron significativas, sin que, en general, se observaran diferencias importantes en función de la profundidad (0-25 cm y 25-40 cm) y órgano (hoja o tallo).

Las mejores correlaciones obtenidas para esta especie correspondieron al Cd, seguidas por las de Zn. Ambos elementos tienen propiedades geoquímicas y ambientales muy similares, de forma que pueden competir durante su absorción, transporte y acumulación (Das *et al.*, 1997). Las Salicáceas (familia a la que pertenece el álamo blanco) se caracterizan por su capacidad para acumular Cd y Zn (Sawidis *et al.*, 2001), circunstancia que explicaría que las mejores correlaciones se hayan obtenido para estos dos elementos (Tabla 6.17; Fig. 6.9).

**Tabla 6.17.** Coeficientes de correlación obtenidos entre los logaritmos de las concentraciones de elementos traza en el suelo (fracción extraíble con EDTA) y los logaritmos de las concentraciones en hojas y tallos respectivamente (n = 46).

Organo	Prof.	As	Cd	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Zn
HOJAS	0-25	0,576**	0,769**	-0,151	0,163	0,358*	0,142	0,365*	0,687**
	25-40	0,526**	0,773**	-0,137	0,245	-0,040	0,173	0,270	0,748**
TALLOS	0-25	0,558**	0,825**	0,294*	0,378*	0,376*	0,374*	0,324*	0,794**
	25-40	0,441**	0,820**	0,357*	0,381*	-0,038	0,120	0,196	0,754**

\*\* p<0,01; \* p<0,05

Los resultados obtenidos para el Cd coincidirían básicamente con los de Robinson *et al.* (2000) para álamos híbridos, y han corroborado la idoneidad de

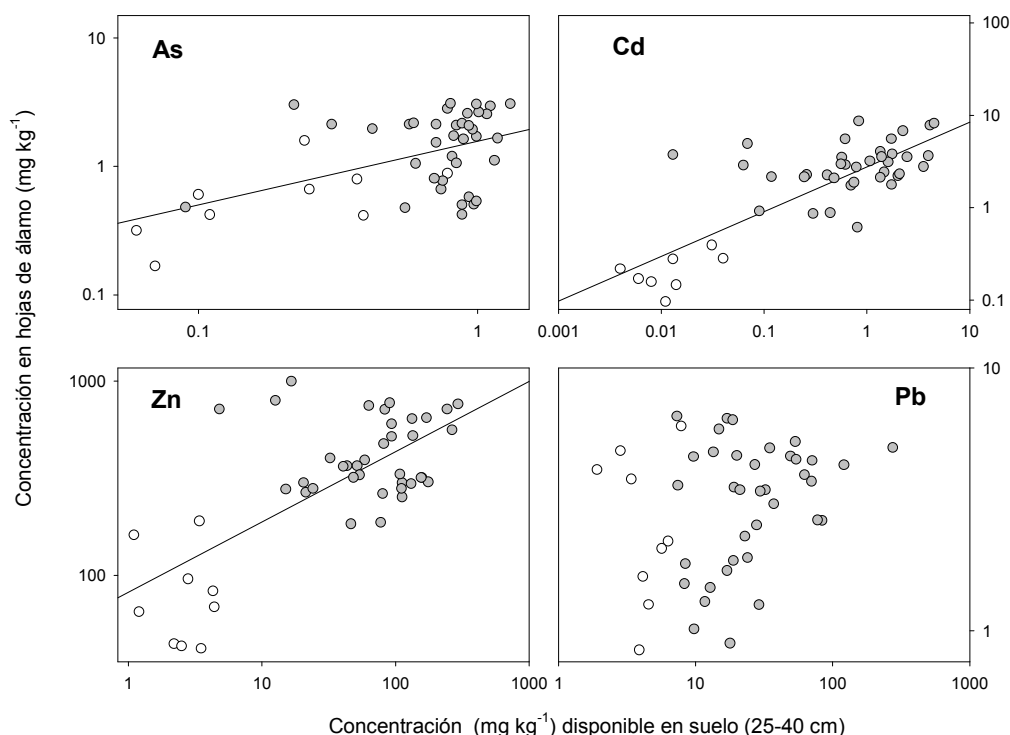
esta planta como especie bioindicadora de Cd. Ello es debido a que su acumulación en plantas superiores procede principalmente del suelo (Wagner, 1993) y que parece ser un elemento que se absorbe pasivamente (al menos en parte; Greger, 1999), y es transportado fácilmente hacia las partes superiores (Das *et al.*, 1997).

También se ha confirmado que para nuestras condiciones edafo-climáticas, el álamo blanco puede ser una buena especie bioindicadora de la contaminación por Zn (Tabla 6.17; Fig. 6.9), cuyas formas solubles son fácilmente disponibles para la vegetación, siendo las Salicáceas especialmente sensibles en este sentido.

También se obtuvieron correlaciones significativas para el As, en las dos profundidades, tanto en hojas como en tallos (ligeramente mejores en hojas, Tabla 6.17), resultados que coinciden con los de Bench *et al.* (1997) y Jung *et al.* (2002) para otras especies vegetales.

Las plantas pueden absorber el As linealmente, respondiendo al aumento progresivo de concentración en el suelo, lo que sugiere una absorción pasiva del elemento (Kabata-Pendias y Pendias, 1992). En este sentido los resultados obtenidos (relación tipo log - log) parecen demostrar que bajo nuestras condiciones, el álamo blanco también podría utilizarse como especie bioindicadora para el As, aspecto importante teniendo en cuenta la naturaleza de la contaminación presente en la zona.

Junto con As y Zn, el Cu fue uno de los elementos más importantes del vertido (Cabrera *et al.*, 1999). Sin embargo, las correlaciones entre Cu en suelo y en hojas fueron negativas, aunque fueron positivas y significativas en los tallos (Tabla 6.17). El contenido de Cu en la hoja no refleja la acumulación de Cu en las plantas. El Cu es un elemento que tiende a formar complejos muy estables en el suelo, por lo que su movilidad es muy baja (Brun *et al.*, 2001). Por otra parte, la disponibilidad de este elemento en suelos puede ser sobrestimada cuando se utiliza el EDTA como extractante (Vidal *et al.*, 1999).



**Figura 6.9.** Correlación entre la concentración de los elementos traza disponibles en el suelo y los contenidos en hojas de álamo. En todos los casos se ha utilizado escala logarítmica. Puntos no afectados (en blanco), puntos afectados (en gris).

También hay que tener en cuenta que elevadas concentraciones de Zn pueden inhibir la toma de Cu por la planta (Kabata-Pendias y Pendias, 1992). Además, en suelos contaminados, el Cu absorbido tiende a acumularse en la raíz. Todas estas circunstancias han podido influir en los resultados obtenidos (correlación negativa), pudiéndose afirmar que las hojas de álamo no pueden ser utilizadas, bajo nuestras condiciones, como bioindicadoras de Cu, a pesar de su importancia en el vertido.

El comportamiento del Fe fue similar al del Cu, aunque no en grado tan extremo. Las correlaciones obtenidas fueron muy bajas, excepto en el caso de los tallos y profundidad de 0-25 cm (Tabla 6.17), situación anómala en el conjunto de resultados obtenidos. En general las respuesta de las plantas a incrementos de Fe en el suelo son escasas. La disponibilidad del Fe depende en gran medida del pH

del suelo, potencial redox, parámetros afectados a su vez por otras condiciones, ambientales y de la planta, que incluyen la presencia e interacción con otros macronutrientes y elementos traza (Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

Las correlaciones obtenidas para el Pb fueron en general muy bajas (Tabla 6.17), a pesar de su elevada concentración en el vertido ( $7900 \text{ mg kg}^{-1}$ , Cabrera *et al.*, 1999). Por tanto, bajo nuestras condiciones edafo-climáticas, el álamo blanco no es buen bioindicador para este elemento, circunstancia bastante generalizada en la naturaleza debido a que muchas plantas tienden a acumular Pb en la raíz, siendo bastante limitada su translocación posterior a la parte aérea (alrededor de un 3% en la mayoría de los casos, Kabata-Pendias y Pendias, 1992). Hay que tener en cuenta, además, que aunque la concentración de Pb en hojas puede ser debida a su absorción radical, estudios de campo han demostrado que una fracción del elemento también puede ser absorbido por vía foliar (Aksoy y Öztürk, 1997), lo que alteraría en parte la relación suelo-planta.

Las correlaciones obtenidas para el Mn resultaron significativas para la profundidad 0-25 cm (Tabla 6.17), a pesar de su baja concentración en el vertido. Puede haber influido en este hecho el que su absorción sea pasiva, ya que las plantas responden a pequeños cambios de concentración en el suelo y que el elemento sea rápidamente translocado hacia la parte aérea de la planta (Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

No se obtuvieron correlaciones significativas para el Ni (sólo en tallos para suelo superficial; Tabla 6.17), en consonancia con su baja representatividad en el vertido y suelos afectados. Incluso se han llegado a obtener correlaciones negativas (años 1999 y 2001, datos no presentados).

Las correlaciones suelo-planta para este elemento suelen ser significativas, al ser absorbido con facilidad por las plantas (Kabata-Pendias y Pendias, 1992). En nuestro caso no han existido diferencias de concentración en los suelos que pudieran haber ocasionado, a su vez, diferencias de concentración en la planta. Además, concentraciones altas de Zn y Cu en los suelos pueden inhibir la absorción de Ni (Cataldo *et al.*, 1978), limitando así la posibilidad de obtener una buena correlación suelo-planta.

El hecho de que no se hayan producido diferencias importantes en función de la profundidad parece indicar que la absorción de elementos traza por parte del álamo resulta igualmente efectiva en los primeros 25 cm de suelo que a mayor profundidad. Hasta un 65% de la biomasa radicular de bosques caducifolios de



climas templados se sitúa en los primeros 30 cm de suelo (Suter II *et al.*, 2000), lo que explicaría la razonable similitud de los resultados obtenidos en ambas profundidades. También hay que tener en cuenta que la mayoría de los suelos de la cuenca se vieron afectados por los lodos del vertido hasta una profundidad próxima a 25-30 cm (Cabrera *et al.*, 1999). Las concentraciones de S en los suelos estudiados fueron mayores en la profundidad de 0-25 cm que en la de 25-40 cm (Tabla 6.4), lo que podría haber potenciado, comparativamente, la absorción de estos elementos en la primera profundidad, más contaminada.

Por otra parte, el hecho de haber obtenido también correlaciones razonablemente similares a nivel de hoja y tallo viene a confirmar que esta última fracción (ramitas terminales, en nuestro caso) puede ser utilizadas en trabajos de biomonitorización (Böhn *et al.*, 1998), a pesar de la mayor sensibilidad, y manejabilidad, de la hoja.

En el muestreo previo (otoño de 1999; Madejón *et al.*, 2004) se obtuvieron, en general, mejores correlaciones para las hojas que para los tallos, circunstancia en la que pudo haber influido el número de muestras (menor en 1999,  $n = 30$ ) y, posiblemente, la mayor contaminación atmosférica a que estuvieron sometidas las plantas durante ese año (como consecuencia de las labores de limpieza), que pudo haber potenciado la absorción foliar de elementos traza. Las correlaciones obtenidas en el año 2001 (datos no presentados) fueron muy similares a los obtenidos en el año 2000, para el mismo número de muestras.

Como conclusión de este apartado, se puede afirmar que en la cuenca del río Guadiamar, el álamo blanco es un buen bioindicador para los elementos Cd y Zn, al haberse obtenido correlaciones suelo-planta altamente significativas, tanto para las hojas como para los tallos (circunstancia que también se repitió en los años 1999 y 2001, datos no presentados). Las concentraciones de As en hoja y tallo también pueden ser orientativas del estado de contaminación de los suelos por este elemento, según se desprende de las correlaciones obtenidas para el mismo, razonablemente altas.

Para el resto de los elementos estudiados, el álamo blanco no es buen bioindicador, al menos bajo las condiciones de este estudio.

## 6.8. CONCLUSIONES

En el estudio de los bosques de ribera del río Guadamar se han encontrado variaciones espaciales y temporales en la concentración de elementos minerales, tanto en los suelos como en las hojas y tallos de los álamos blancos.

### *Variabilidad de los suelos*

El pH de los suelos afectados por el vertido fue ligeramente inferior al de los suelos de referencia, a pesar de su mayor contenido en  $\text{CaCO}_3$ . Oxidaciones parciales del S del lodo residual presente en los mismos podían ser la causa de esta aparente anomalía. Por otra parte, el vertido no afectó al nivel de fertilidad química de los suelos, bastante moderado en la generalidad de los casos.

Las concentraciones totales de S de los suelos afectados fueron muy altas, muy por encima de la mediana de  $800 \text{ mg kg}^{-1}$  de suelos normales. Los niveles de As siempre estuvieron por encima del límite de  $50 \text{ mg kg}^{-1}$ , a partir del cual se ha considerado (a nivel local) el tratamiento de los suelos. En general, las concentraciones totales de elementos traza fueron altas en los suelos afectados, circunstancia reflejada por valores altos del índice de carga contaminante (PLI). La ubicación de los álamos, muy próximos al cauce, dificultó las tareas de limpieza y aplicación de enmiendas, en estas zonas, por tanto los niveles de contaminación residual fueron altos. Paralelamente, se detectaron concentraciones comparativamente altas de elementos potencialmente disponibles (extraídos con EDTA) para la planta, por lo que puede concluirse que los álamos estuvieron sometidos a severas condiciones de contaminación por elementos traza.

### *Variabilidad espacial de nutrientes en la planta*

En general, se puede decir que tanto en hojas como en tallos, no parece que se hayan producido grandes diferencias en las concentraciones de nutrientes debido a la presencia de elementos traza en el suelo.

Las concentraciones de los nutrientes básicos N, y especialmente P y K tendieron a disminuir en los tejidos de la planta; mientras que aumentaron Ca y Mg. También se registraron aumentos de S en hojas y tallos, siendo este aumento consecuencia directa de la propia naturaleza del vertido, muy rico en S. A pesar de

que hojas y tallos reflejaron la presencia de elementos traza en el suelo, las hojas parecen ser más sensibles a los cambios de concentración producidos.

#### *Variabilidad espacial de elementos traza en la planta*

La contaminación residual de los suelos afectados produjo un aumento generalizado de la concentración de As, Pb y Tl en hojas y tallos, respecto a los registrados en una zona situada fuera de la Cuenca del Guadiamar (suelo de referencia, RHU, no afectado por el vertido). Las concentraciones más altas se alcanzaron, en general, en suelos ácidos (punto SO). No obstante, las concentraciones de estos 3 elementos se mantuvieron muy próximos al intervalo de concentración considerado normal para plantas leñosas.

Los incrementos de Cd y Zn en hojas y tallos, fueron mayores que los de As, Pb y Tl, respecto al punto no afectado RHU, situado fuera de la Cuenca del Guadiamar, reflejando así la capacidad acumuladora del álamo blanco para estos dos elementos.

Las concentraciones de Fe, Mn, Cu y Ni en las hojas y tallos de los árboles afectados por el vertido no registraron cambios importantes, respecto a los obtenidos en los suelos no afectados. El caso del Cu fue el más llamativo, dada su abundancia en el vertido, al haberse producido una baja absorción y/o translocación del elemento a la parte aérea de la planta. En el caso del Mn, destacó la aparente dependencia de su absorción con el pH, habiéndose alcanzado concentraciones mucho más altas en los suelos ácidos que en los restantes suelos calcáreos de la Cuenca.

#### *Variabilidad interanual de nutrientes*

Las concentraciones de N de las hojas (fracción fotosintética más importante) se mantuvieron dentro de límites que podrían considerarse normales durante los tres años de estudio. Sólo en el tercer año se observó un descenso en las zonas afectadas por el vertido. Falta comprobar (estudios a más largo plazo) si se trataba de una fluctuación interanual ajena al vertido o fue una consecuencia del mismo (medio plazo).

En general, las concentraciones de P y K en hoja fueron razonablemente similares a lo largo del estudio, aunque manteniéndose más bajas en las plantas

procedentes de los suelos afectados por el vertido; las concentraciones de Ca y Mg también se mantuvieron constantes a lo largo de los tres años de estudio, pero en este caso resultaron más altas en las plantas de los suelos afectados que en las de los no afectados, especialmente el Ca, aspecto positivo teniendo en cuenta el efecto “protector” de este elemento ante la presencia de elementos traza.

Las concentraciones de S (más altas en las plantas de los suelos afectados) presentaron mayores fluctuaciones interanuales que los demás nutrientes, registrándose un notable descenso en el segundo año de estudio, respecto a los restantes.

#### *Variabilidad interanual de elementos traza*

La evolución de elementos traza presentó un patrón más definido que el de los nutrientes básicos anteriormente considerados.

De los elementos traza estudiados, a lo largo de los tres años de estudio, sólo se observaron claros descensos en la concentración de As y Pb en hojas. Las concentraciones más altas de ambos elementos se alcanzaron en el primer año de estudio en el punto de LA (a pesar de ser de los menos contaminados) donde se alcanzaron concentraciones 14 veces y 7 veces más altas de As y Pb respectivamente, con respecto al punto situado fuera de la cuenca. El único punto donde no se produjeron estos descensos fue el de los suelos ácidos muestreados, donde ambas concentraciones se mantuvieron razonablemente constantes.

Las concentraciones de TI de las hojas de los árboles afectados tendieron a bajar, aunque moderadamente, a lo largo del estudio, excepto en los suelos ácidos. Fue en estos suelos (punto SO) donde únicamente se llegó a superar el intervalo normal en plantas, en el último año de estudio (32 veces mayor que en las hojas de los árboles no afectados), lo que refleja la conveniencia de seguir monitorizando este elemento.

Cadmio y Zn presentaron un patrón evolutivo bastante similar, manteniéndose sus concentraciones razonablemente uniformes (dentro de cada punto de muestreo), a lo largo de los tres años de estudio. Los contenidos de ambos elementos fueron mayores en los suelos afectados por el vertido que en los suelos no afectados, hasta 40 veces en el caso del Cd (suelos calcáreos del punto DO) y 17 veces en el caso del Zn (suelos ácidos del punto SO). En general, las concentraciones de Cd y Zn en hojas y tallos fueron altas en todos los puntos

afectados por el vertido, fruto de la capacidad de esta especie para acumularlos en sus tejidos.

A pesar de la riqueza en Cu del vertido, y suelos afectados, las concentraciones del elemento en hoja se mantuvieron por debajo del límite de fitotoxicidad y razonablemente constantes, a lo largo de los tres años de estudio, tanto en los suelos afectados por el vertido como los que no lo estaban. Las concentraciones de Fe y Mn en hoja se mantuvieron constantes, salvo casos aislados, durante los tres años de estudio.

Aunque las hojas suelen ser mejores indicadoras de la contaminación del suelo, los tallos también reflejaron el efecto del vertido. En líneas generales, puede decirse que la concentración de elementos traza en los tallos siguió un patrón evolutivo razonablemente similar al obtenido para las hojas.

#### *Acumulación diferencial de elementos traza entre hojas y tallos*

La planta tiende a acumular más As y Pb en la hoja que en el tallo, siendo mayor la diferencia a medida que la concentración de ambos elementos aumenta en la planta. El Zn también experimentó una acumulación preferencial en las hojas de los árboles afectados por el vertido; en los puntos no afectados su distribución entre hojas y tallos fue más homogénea. La acumulación de As, Pb y Zn en la hoja puede contribuir a un mecanismo de detoxificación para la planta, al tratarse de árboles de hoja caduca.

Cd y Cu mostraron una distribución razonablemente homogénea entre hojas y tallos, tanto en los puntos afectados por el vertido como en los suelos utilizados de referencia. Hierro, Mn y en menor medida Ni, experimentaron una acumulación preferencial en la hoja. La distribución del Tl no mostró un patrón tan definido; cuando su concentración en los tejidos vegetales era baja tendía a acumularse en las hojas, experimentando una distribución más homogénea entre hojas y tallos ante acumulaciones mayores.

#### *Álamo blanco como planta bioindicadora*

En las condiciones de los bosques de ribera del Guadiamar el álamo blanco es una buena planta bioindicadora del contenido de Cd y Zn en suelos, tanto si se utilizan las hojas como los tallos. Las concentraciones de As en hoja y tallo

también pueden ser orientativas del estado de contaminación de los suelos por este elemento. No se obtuvieron, en general, buenas correlaciones para Pb, Fe, Mn, Cu y Ni, aunque en algunos casos éstas resultaran significativas, no pudiéndose establecer conclusiones acerca de la utilidad de estos cinco elementos para la biomonitorización en álamos.

## **7. ACUMULACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN HOJAS Y FRUTOS EN ÁRBOLES DE BOSQUE MEDITERRÁNEO**

### **7.1. INTRODUCCIÓN**

La encina (*Quercus ilex* Lam.) y el acebuche (*Olea europaea* L.) son dos árboles típicos del bosque mediterráneo, muy frecuentes en la península Ibérica, incluidas algunas de las zonas de la cuenca del Guadiamar que resultaron afectadas por el vertido minero.

Al tratarse de dos especies distintas (genética y morfológicamente), permiten estudiar diferentes modelos de acumulación de nutrientes y elementos traza en diversos órganos, en función de sus características peculiares; este aspecto tiene especial interés en el caso de las semillas, cubierta por un pericarpio endurecido en el caso de la encina y por una pulpa carnosa y endocarpo leñoso en el caso de la acebuchina, siendo así muy diferente su accesibilidad a la contaminación externa.

También es muy interesante el estudio de sus hojas, ya que al tratarse de especies perennes, los elementos traza pueden irse acumulando en ellos durante sus 3-4 años de vida. Su accesibilidad a la contaminación externa es también muy diferente, siendo mucho mayor en la encina, árbol muy utilizado como bioindicador de la deposición aérea de elementos traza (Bargagli, 1998; Bargagli *et al.*, 2003). En el caso del *Quercus*, la especie *Q.ilex* L., también se está estudiando para la eliminación de metales tóxicos en solución (Prasad y Freitas, 2000).

Así pues, bajo las peculiares circunstancias medioambientales que nos ocupan, el estudio de dos de las especies más emblemáticas del bosque mediterráneo, no sólo tiene interés eco-fisiológico, sino también toxicológico, ya que sus hojas y frutos son consumidos por numerosos organismos de la cadena trófica.

Por consiguiente, este capítulo se ha centrado en el estudio de nutrientes y elementos traza en hojas, tallos y frutos de acebuche y encina a lo largo de tres años (1999-2001), en función de los siguientes objetivos: 1) Comparar las concentraciones de nutrientes y elementos traza en árboles afectados y no afectados por el vertido, una vez transcurridos los 42 meses desde el accidente (variabilidad espacial); 2) Estudiar la acumulación de elementos traza en las hojas en función de su edad; 3) Estudiar la evolución de la acumulación de nutrientes y elementos traza durante tres años consecutivos (variabilidad temporal); 4) Evaluar si la acumulación de elementos traza en hojas y frutos ha alcanzado concentraciones tóxicas para diversos componentes de la red trófica.

## **7.2. ESPECIES DE ESTUDIO**

### **7.2.1. Acebuche**

Árbol de hoja perenne perteneciente a la familia *Oleaceae*, subfamilia *Oleoideae*. *Olea europaea* L. es un árbol o arbolillo de 6-10 m de talla, con tronco grueso, de corteza pardo grisácea, copa densa y redondeada. Ramas flexibles, de corteza lisa, pardo-cenizosa. Hojas simples, opuestas y persistentes, coriáceas, oblongo-lanceoladas, mucronadas, enteras en sus borde, cortamente pecioladas, verde oscuras por el haz, y el envés cubierto de pelos aparasolados, blanco-plateados; sin estípulas.

Las flores son blanquecinas, pequeñas, en ramillos axilares. Poseen un cáliz corto, cuadridentado; corola de tubo corto y limbo 4-lobulado, caediza. Dos estambres insertos en el tubo de la corola y alternos con los lóbulos de ésta. Ovario súpero, con dos lóculos biovulados (Ruiz de la Torre, 2001).



Fruto (aceituna o acebuchina) en drupa, poco carnosa, elipsoidea, negruzca a la madurez. Pericarpio carnoso, oleaginoso. Endocarpo grueso, óseo; una semilla por aborto.

Florece de Mayo a Junio y los frutos maduran de otoño a invierno. En España aparece en matorrales, setos y bosques de los pisos bajos y montano de Andalucía, Extremadura, Castilla, Murcia, Valencia, Cataluña y bajo Aragón.

Es indiferente en cuanto a los suelos y está preparado para resistir fuertes calores, sequías, vientos y basicidad del suelo, siendo una especie típicamente mediterránea. Es de crecimiento lento y enorme longevidad. Emite en todas las edades numerosos retoños y renuevos vigorosos, y así puede mantenerse la vida de la cepa por tiempo indefinido. Los crecimientos mayores se dan en suelos arenosos-arcillosos y con cierta humedad (Ruiz de la Torre, 2001).

### **7.2.2. Encina**

La encina (*Quercus ilex* L.) es un árbol corpulento, siempreverde, de hasta 25 m de talla; adquiere forma de arbusto cerca de su límite altitudinal superior. Raíz principal potente, axonomorfa, penetrante; en la primera edad no se ramifica, desarrollándose mucho más que el tallo; luego se ramifica abundantemente, para asegurar el aprovisionamiento de agua y nutrientes, desarrollando secundarias de gran vitalidad y fuerza. Corteza no corchosa, relativamente delgada, primero grisácea, lisa, que se agrieta pronto, poco profundamente, en teselas pequeñas, pardo-negruzcas, alargadas en sentido vertical. Copa específica redondeada, amplia, oscura, verde-grisácea o negruzca, primero ovoidea, luego se ensancha. Ramificación fuerte y abundante; ramas principales robustas, erecto-patentes, muy subramificadas, de corteza bastante tiempo lisa. Brotes gris-tomentoso, gruesos. Yemas pequeñas, ovoideas, obtusas, con escamas ovales.

Las hojas son simples, alternas, persistentes, con 3-4 años de vida. Pecíolo de 3-10 mm. Limbo grueso y coriáceo, aunque flexible o poco rígido; con formas características pero muy variables; canopeloso en las dos caras al desarrollarse, luego queda el haz verde oscuro, glabrescente y liso y el envés verde-pálido, al fin grisáceo. Foliación en primavera; las hojas que han llegado al final de su vida caen hacia el mes de Agosto.

Las flores son monoicas, con cierta tendencia a la dioecia, predominando las masculinas a las femeninas. Amentos masculinos amarillos, densamente

agrupados en los ramillos de un año. Flores femeninas sobre los brotes del año, solitarias o en corto número sobre pedúnculo tomentoso. Bellota oblongo-cilíndrica, apuntada, de 2-3 cm de largo por 1-1,5 cm de diámetro, pardo-lustrosa, vellosa en la punta, endocarpio sedoso-tomentoso. Cúpula, al igual que la bellota, con variabilidad de formas y tamaños; grisácea y tomentosa exteriormente. Florece en abril-mayo, y los frutos están maduros en octubre-noviembre del mismo año (Ruiz de la Torre, 2001).

Las semillas constan de las siguientes partes:

*Embrión*: parte viva de la semilla de la que surgirá la futura plántula.

*Cotiledones*: son estructuras con elevado contenido en azúcares que rodean al embrión y habitualmente lo nutre para proporcionar alimento a la futura plántula.

*Membrana seminal*: estructura membranosa situada entre el pericarpio y los cotiledones a los que se adhiere rodeándolos.

*Pericarpio*: estructura externa lignificada que protege a la zona interna de la semilla. De color pardo claro a pardo oscuro, aísla parcialmente al embrión de la luz, la temperatura, la pérdida de agua (deshidratación) y al resto de la semilla del ataque de roedores e insectos fitófagos que pudieran dañarlas (Vázquez, 1998).

Es el árbol más característico de España, cubriendo gran parte de la Península. Indiferente en cuanto a suelos, vive tanto en substrato calizo como silíceo o arenoso suelto; rehuye los terrenos encharcados y tolera mal los arcillosos excesivamente compactos, faltando en los salinos o muy yesosos. La humedad del suelo es conservada por la densidad y abrigo de las copas y por el espesor de su cubierta muerta; crea y mejora el suelo, funcionando como especie decalcificadora en terrenos básicos. Prefiere tierras sustanciosas, sueltas y profundas, pero acepta sustratos pobres. Presenta gran resistencia a la sequía y a la continentalidad, tolerando una gran sequedad del aire. Resiste fuertes calores y fríos, siendo las mínimas térmicas las que ponen tope a su expansión altitudinal y septentrional.

La división fundamental de esta especie establece dos subespecies *ilex* y *rotundifolia*. La subespecie *rotundifolia* (*Q. rotundifolia* Lamk.) es la que está presente en el área estudiada, propia de la zona donde nos encontramos. Esta subespecie está caracterizada por tener copa amplia, recogida, ovoidea-globosa. Ramillos horizontales o erectos. Hojas de los renuevos orbiculares, glaucas, pubescentes o subtomentosas de jóvenes en el haz. Las hojas son ovado-redondeadas, orbiculares o elípticas, enteras o dentado-espinosas. La longitud de

las hojas es menor del doble de la anchura y a veces casi igual a ésta. Bellotas dulces, generalmente grandes, de forma variable (Ruiz de la Torre, 2001).

Es la encina del sur, centro y oeste de España, extendiéndose hacia el norte por el Valle del Duero, Levante y bajo Aragón, hasta el valle del Ebro (Ruiz de la Torre, 2001).

### **7.3. MUESTREO Y ANÁLISIS**

#### **7.3.1. Zona de muestreo**

La zona de muestreo se sitúa dentro de la cuenca del Guadiana, en la subzona del Aljarafe, ya dentro del valle del Bajo Guadalquivir, concretamente en el denominado sector Hispalense (unidad Aljarafeña). El dominio climático de los encinares de la cuenca comprende encinares termomediterráneos silicícolas (*Myrto communis-Querceto rotundifolia* S), abundantes en todo el territorio, encinares termomediterráneos basófilos (*Smilaco mauritanicae-Querceto rotundifoliae* S), hoy día prácticamente inexistentes debido a que se desarrollaban sobre los suelos más apetecidos por la agricultura, por lo que sólo es posible hallar algunos retazos de sus etapas de sustitución, y encinares mesomediterráneos silicícolas, en las zonas más interiores de la cuenca (Cabezudo *et al.*, 2003).

El encinar de estudio es de tipo termomediterráneo silicícola, frecuente en el sector Araceno-Pacense y de modo lineal en el borde del río Guadiana o, aislado, en el subsector Hispalense (Aljarafe). Está situado en la finca Soberbina, a 4,5 Km de la mina, en el término municipal de Sanlúcar la Mayor, sobre una zona de terrazas de la margen derecha del río, de suelos ácidos. Las terrazas más bajas de la finca fueron afectadas por el vertido minero, y en una de ellas fueron seleccionados árboles de cada especie, encina y acebuche, para su estudio (37° 27' 22.5" N, 6° 13' 01" O). Los restantes árboles fueron seleccionados en una terraza inmediata, más alta donde no llegó el vertido considerada como zona control o de referencia (37° 27' 22" N, 6° 13' 05" O).

#### **7.3.2. Descripción del muestreo**

Los muestreos se realizaron durante el otoño de los años 1999, 2000 y 2001. Durante el año 1998, sólo seis meses después del accidente, se realizó un

muestreo preliminar. En el año 2000 también se realizó un muestreo de primavera para poder comparar la composición de hojas jóvenes, del año, con las viejas de cada árbol.

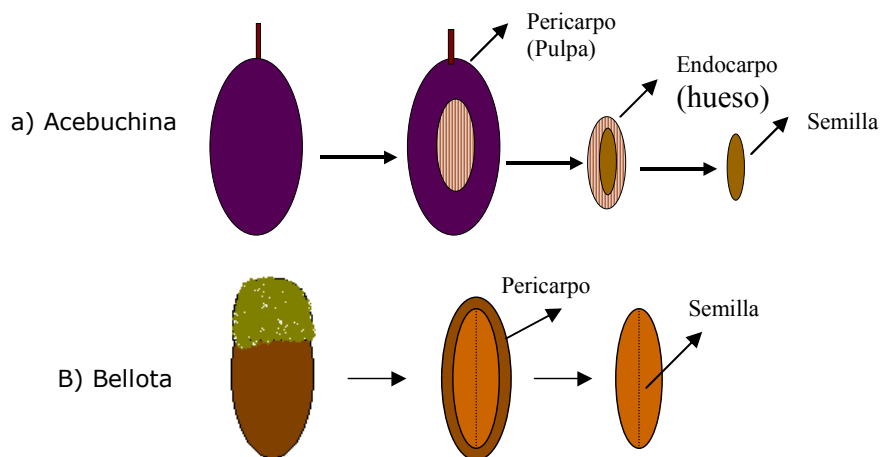
En cada zona, afectada por el vertido y de referencia, fueron seleccionados 5 árboles de cada especie en cada punto (20 en total), marcándose cada uno de ellos con una chapa metálica, durante el otoño de 1999, para su identificación posterior. Cada árbol fue georreferenciado y caracterizado en función de la estima de su altura, perímetro del tronco (a la altura del pecho) y descripción general de sus características.

De cada árbol se tomaron hojas, tallos y frutos, siguiendo los mismos criterios establecidos para el álamo (ver apartado 6.2.2). Una vez en el laboratorio, de cada árbol se obtuvo el peso medio del fruto y hoja. Como en el caso del álamo, se obtuvo una muestra del suelo para cada árbol, a profundidades de 0-25 cm y 25-40 cm, a partir de tres submuestras tomadas alrededor del tronco (a una distancia de 1 a 2 m del mismo) mediante barrena de caña.

### ***7.3.3. Análisis de las muestras***

Las muestras de hojas y tallos se prepararon de acuerdo como se explica en el capítulo 4. De los frutos de la encina y acebuche (bellota y acebuchina) se analizó: la semilla y el pericarpo por separado en el primer caso (bellotas); los frutos del acebuche se analizaron, por un lado, la pulpa (pericarpo) mediante raspado de éstas una vez secas, hasta llegar al endocarpo, y las semillas. Las semillas de estos últimos frutos se obtuvieron mediante la utilización de un "sacabocados" con que partir el hueso (Fig. 7.1).

Para el análisis de los suelos se siguió el mismo proceso que se explica en el capítulo 4.



**Figura 7.1.** Partes del fruto de la acebuchina (a) y bellota (b), especificando cada una de las partes analizadas.

## 7.4. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y NIVEL DE CONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS

### 7.4.1. Propiedades generales

Se han estudiado conjuntamente los suelos tomados junto a los árboles de acebuche y encina, atendiendo a la uniformidad general del área muestreada (Tablas 7.1 y 7.2).

Los suelos de referencia son "ácidos" en las dos profundidades consideradas (están en el intervalo de 5,6-6,5), y los de la zona afectada por el vertido son muy ácidos ( $\text{pH} < 5,5$  ; ver criterios en JE-MP, 1992).

**Tabla 7.1.** pH, contenido en  $\text{CaCO}_3$  y textura de los suelos estudiados. (R), suelo de referencia, no afectados por el vertido; (A), afectado por el vertido. Valores medidos sobre suelo seco (n=10). Las diferencias significativas entre suelos, para cada profundidad, se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

Suelo	Profundidad (cm)	pH	$\text{CaCO}_3$ (%)	Textura
R	0 - 25	$5,6 \pm 0,3$ *	< 0,5	Franca
A		$4,1 \pm 0,2$	< 0,5	Franca
C	25 - 40	$5,7 \pm 0,2$ *	< 0,5	Franca
A		$4,6 \pm 0,3$	< 0,5	Franco-arcillosa

La acidez general de la zona deriva de su carácter de terraza situada en la margen derecha del Guadiana, bajo la influencia por tanto de las estribaciones de Sierra Morena. Cabe destacar que dentro de este escenario general, la presencia del vertido pudo aumentar el nivel de acidez, resultando significativa la diferencia de pH entre el suelo afectado y de referencia, para las dos profundidades (Tabla 7.1).

Se trata de un aspecto importante para los objetivos de nuestro trabajo, teniendo en cuenta que bajo pH ácido (y contenidos muy bajos de  $\text{CaCO}_3$ , como los del área que nos ocupa, Tabla 7.1) aumenta la disponibilidad de los elementos traza (Greger, 1999). Si a ello añadimos que bajo texturas ligeras, como la textura franca que parece predominar en toda la zona (Tabla 7.1), puede aumentar la disponibilidad de un metaloide como el As (Smith *et al.*, 1998), hemos de admitir que las dos especies estudiadas, acebuche y encina, han podido estar sometidas a un fuerte estrés por metales en la zona afectada.

#### **7.4.2. Contenido en nutrientes**

Las concentraciones de N, P y K fueron, en general, bajas o moderadas, como corresponden a la generalidad de este tipo de suelos, de textura franca, especialmente los situados en terrazas altas, más arenosos (Mudarra, 1998). Se han clasificado por categorías según la JE-MP(1992).

Los contenidos de N de los primeros 25 cm del suelo de ambas zonas (referencia y afectada) se podrían considerar "normales" (intervalo 0,11-0,20 %). Los obtenidos para la profundidad 25-40 cm serían, "muy bajo" el del suelo de referencia y "bajo" el del suelo afectado (Tabla 7.2). Destacar que existe un

contenido significativamente mayor de N en los horizontes más profundos afectados por el vertido.

**Tabla 7.2.** Concentración de nutrientes en los suelos estudiados; (R), suelo de referencia, no afectados por el vertido; (A), afectado por el vertido. Valores medidos sobre suelo seco (n=10). Diferencias significativas entre suelos, para cada profundidad, se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

Suelo	Profundidad (cm)	N (%)	P (mg kg <sup>-1</sup> )	K (mg kg <sup>-1</sup> )
R	0 - 25	0,13 ± 0,02	7,3 ± 1,4	260 ± 31
A		0,17 ± 0,02	9,9 ± 2,2	302 ± 74
R	25 - 40	0,04 ± 0,01 *	2,7 ± 0,6	179 ± 31
A		0,10 ± 0,01	4,0 ± 0,5	179 ± 28

Las concentraciones de P serían "bajas" en el estrato superficial de ambos suelos (0-25 cm, suelos de referencia y afectados); para suelos de textura franca se considera bajo un intervalo de 7-12 mg kg<sup>-1</sup>. Las concentraciones de la profundidad 25-40 cm serían siempre "muy bajas".

Los contenidos de K serían los únicos que podrían considerarse normales en los suelos a la profundidad de 25-40 cm (intervalo de 160-235 mg kg<sup>-1</sup>), destacando el contenido alto de los suelos en la profundidad de 0-25 cm (239-391 mg kg<sup>-1</sup>). No se han obtenido diferencias significativas en los contenidos de P y K entre suelos afectados y no afectados.

Se trata obviamente de criterios orientativos, muy dependientes, además, del tipo de manejo del suelo. Según otros criterios, la valoración del nivel de fertilidad podría ser distinta.

Más que el nivel de fertilidad en sí, que depende mucho de las exigencias de cada especie vegetal en particular, resulta interesante comprobar que, en general, las concentraciones de N, P y K tienden a ser mayores, en las dos profundidades, en el suelo afectado, con diferencias significativas para el N en la profundidad 25-40 cm (Tabla 7.2).

Pueden existir diversas razones que expliquen este hecho. En primer lugar, la situación del suelo de referencia, ligeramente por encima del afectado, implicaba una influencia algo mayor del carácter más arenoso de las terrazas altas. El contenido de arena del primero osciló alrededor del 34%, siendo del orden de 27% en el afectado. Los contenidos de limo y arcilla fueron consecuentemente más altos en este último (alrededor de 73 %, frente a 66% en el de referencia).

El contenido ligeramente superior de la fracción limo-arcillosa del suelo afectado (más próximo al cauce del río), sometida, además, al efecto acidificante del vertido (Tabla 7.1), pudo haber influido en la aparición de contenidos de los nutrientes N y P y K disponibles algo mayores.

Las terrazas más bajas tienden a estar más “fertilizadas” por los aportes de materiales arrastrados por el río durante las avenidas. Estas razones parecen más plausibles que una posible influencia de aplicación de enmiendas (no efectuada bajo la copa de los árboles, donde se tomaron las muestras de suelo).

#### 7.4.3. Concentraciones totales de S, elementos traza y valores de PLI

Las concentraciones de S fueron muy altas en los primeros 25 cm del suelo afectado, más influenciado por el vertido. Respecto al suelo de referencia, la concentración en esta profundidad fue 10 veces superior, y sólo 5 veces en la profundidad de 25-40 cm.

**Tabla 7.3.** Concentraciones de S y elementos traza As, Pb y Zn extraídos con *aqua regia* en los suelos no afectados (R) y afectados (A). Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 10$ ). Diferencias significativas entre los dos tipos de suelos ( $p < 0,05$ ) se indican con asterisco.

Suelo	Profundidad (cm)	S (mg kg <sup>-1</sup> )	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
R	0 - 25	422 ± 47,0 *	14,8 ± 1,0 *	41,9 ± 3,4 *	83,8 ± 3,3 *
A		4275 ± 1657	82,0 ± 24,5	201 ± 62,0	618 ± 119
R	25 - 40	246 ± 26,5 *	13,2 ± 0,7 *	33,3 ± 3,1 *	76,4 ± 3,4 *
A		1136 ± 228	33,1 ± 4,0	126 ± 17,2	371 ± 90,7
Conc. Normal <sup>a</sup>		30 - 1600	0,1 – 40	2 – 300	1 - 900
Conc. Tóxica <sup>b</sup>			20	100 - 400	70 - 400

<sup>a</sup> Concentración normal en suelos. Bowen (1979)

<sup>b</sup> Concentración tóxica para las plantas. Ross (1994); Singh y Steinnes (1994)

Las concentraciones de S obtenidas para el suelo afectado, evidencian el notable nivel de contaminación residual todavía existente en estos suelos, especialmente en el estrato superficial. Además, ponen en evidencia la variabilidad espacial de su distribución, a tenor del elevado error estándar obtenido (Tabla 7.3). Esta circunstancia ha sido observada reiteradamente en muchos trabajos



(Cabrera *et al.*, 1999, Ayora *et al.*, 2001, Galán *et al.*, 2002, Madejón *et al.*, 2002).

Las concentraciones superficiales de S en los suelos contaminados fueron más altas que el límite superior del intervalo considerado normal para suelos (Bowen, 1989). También son superiores a la mediana de 800 mg kg<sup>-1</sup> referida por Reimann y Caritat (1998) para suelos del mundo.

Las concentraciones de As, Pb y Zn también fueron significativamente mayores en los suelos afectados que en los de referencia (Tabla 7.3), especialmente en la profundidad de 0-25 cm, donde se alcanzaron incrementos de 5-7 veces, respecto del suelo de referencia.

Sólo la concentración de as en el suelo contaminado (profundidad de 0-25 cm) superó la concentración normal en suelos (tabla 7.3); este tipo de intervalos contempla suelos que, por su génesis, poseen valores muy altos de algunos elementos traza, por lo que sólo son orientativos. más ilustrativo resultó el hecho de que las concentraciones de pb se situaran dentro del intervalo de fitotoxicidad, y las de as y zn llegara incluso a superarlo (en el caso del zn sólo en la profundidad de 0-25 cm, tabla 7.3).

**Tabla 7.4.** Concentración de Fe y de los elementos traza Mn, Cu y Ni extraídos con *aqua regia* en los suelos no afectados (R) y afectados (A). Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco (n = 10). Diferencias significativas entre los dos tipos de suelos (p<0,05) se indican con asterisco.

Suelo	Profundidad (cm)	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Ni (mg kg <sup>-1</sup> )
R	0 - 25	26970 ± 506 *	968 ± 45,7	43,8 ± 9,5 *	20,6 ± 0,5 *
A		35930 ± 2301	1079 ± 130	146 ± 23,3	26,2 ± 1,6
R	25 - 40	16297 ± 5456*	891 ± 71,7	29,3 ± 2,4 *	23,4 ± 0,70 *
A		35427 ± 1436	982 ± 94,8	119 ± 24,6	27,9 ± 1,50
Conc. Normal <sup>a</sup>		2000 - 550000	20 - 10000	2 - 25	2 - 750
Conc. Tóxica <sup>b</sup>			1500 - 3000	60 - 125	100

<sup>a</sup> Concentración normal en suelos. Bowen (1979).

<sup>b</sup> Concentración tóxica para las plantas. Ross (1994); Singh y Steinnes (1994).

Las concentraciones de Fe, Cu y Ni también resultaron significativamente mayores en los suelos afectados que en los de referencia, pero sólo en el caso del Cu se obtuvieron incrementos de concentración realmente importantes, unas 3 veces en la profundidad de 0-25 cm y 4 veces en la profundidad de 25-40 cm

(Tabla 7.4). El Cu fue el único de estos cuatro elementos que llegó a superar el umbral de fitotoxicidad.

Las concentraciones de Mn fueron algo más altas en los suelos afectados, pero las diferencias, respecto al suelo de referencia, no resultaron significativas (Tabla 7.4).

**Tabla 7.5.** Valores de PLI de los suelos de referencia (R) y afectados (A), considerando como valores de fondo de elementos traza : (A), los facilitados por Cabrera *et al.*, (1999), para suelos contaminados de la cuenca del Guadamar y (B), los obtenidos con los valores del suelo de referencia (R).

Suelo	Profundidad (cm)	PLI (A)	PLI (B)	Profundidad (cm)	PLI (A)	PLI (B)
R	0-25	1,11	-	25-40	0,96	-
A	0-25	4,26	3,84	25-40	2,84	2,95

Los valores del índice de carga contaminante (PLI) reflejaron la contaminación residual todavía existente en el suelo afectado, ocasionada por elementos como As, Pb, Zn y Cu. Cuando se consideraron valores de fondo para todo el área (facilitados por Cabrera *et al.*, 1999), los valores de PLI obtenidos (4,26 para la profundidad de 0-25 cm y 2,84 para la de 25-40 cm, Tabla 7.5) fueron del orden de los calculados para las restantes zonas de estudio; 1,5 a 6,7 en el caso de la grama y 1,3 a 6 en el caso del álamo (Figura 5.2 y Tabla 6.6).

La zona afectada donde se ha estudiado la encina y el acebuche presenta un nivel de contaminación residual razonablemente similar al detectado en toda la cuenca, aunque sin alcanzar los valores máximos registrados en algunos puntos (valores de PLI entre 6 y 7). Aún así, el carácter ácido de esta zona podría potenciar el estrés vegetal causado por los metales pesados.

#### **7.4.4. Concentraciones disponibles de elementos traza**

Sólo una pequeña fracción del contenido total de elementos traza del suelo es disponible para la planta. Estos contenidos disponibles (extracción con EDTA) permiten hacer una predicción aproximada de la movilidad del metal en el suelo (Morera *et al.*, 2001).

Las concentraciones disponibles de los elementos traza estudiados (Tablas 7.6 y 7.7) fueron siempre, en las dos profundidades, significativamente mayores en

los suelos afectados respecto a los no afectados (suelos de referencia); la única excepción correspondió al As en la profundidad de 0-25 cm (también mayor, pero la diferencia no fue significativa), debido posiblemente a la dispersión de los resultados obtenidos en el suelo afectado (Tabla 7.6).

**Tabla 7.6.** Concentración de elementos traza, As, Pb, Cd y Zn extraídos con EDTA en los suelos no afectados (R) y afectados (A). Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 10$ ). Diferencias significativas entre los dos tipos de suelos ( $p < 0,05$ ) están marcadas con asterisco.

Suelo	Profundidad (cm)	As (mg kg <sup>-1</sup> )	Pb (mg kg <sup>-1</sup> )	Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
R	0 - 25	0,68 $\pm$ 0,25	12,4 $\pm$ 1,90*	0,04 $\pm$ 0,01 *	7,03 $\pm$ 1,20
A		3,50 $\pm$ 1,41	44,3 $\pm$ 5,46	1,05 $\pm$ 0,40	174 $\pm$ 26,2
R	25 - 40	0,37 $\pm$ 0,09 *	4,62 $\pm$ 0,63*	0,01 $\pm$ 0,005*	2,20 $\pm$ 0,35*
A		0,95 $\pm$ 0,23	32,3 $\pm$ 6,21	0,36 $\pm$ 0,16	70,5 $\pm$ 23,9

Son muchos los factores que determinan la disponibilidad de los metales en el suelo, siendo el pH uno de los más importantes (Morera *et al.*, 2001; Dudka y Miller, 1999). El pH significativamente más bajo de los suelos afectados puede que haya potenciado en cierta medida la movilidad (disponibilidad) de algunos elementos traza en el suelo, que podría potenciar, a su vez, el efecto negativo que puedan tener sobre las plantas. Sin embargo pueden existir otras diferencias, por ejemplo de fertilidad, textura ocasionada por la distinta localización de las terrazas que también pueden haber influido en los resultados obtenidos.

**Tabla 7.7.** Concentración de elementos traza, Fe, Mn, Cu y Ni extraídos con EDTA en los suelos no afectados (R) y afectados (A). Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 10$ ). Diferencias significativas entre los dos tipos de suelos ( $p < 0,05$ ) están marcadas con asterisco.

Suelo	Profundidad (cm)	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Ni (mg kg <sup>-1</sup> )
R	0 - 25	219 $\pm$ 22,9 *	244 $\pm$ 19,5 *	15,2 $\pm$ 5,0 *	1,63 $\pm$ 0,17 *
A		908 $\pm$ 233	359 $\pm$ 23,7	56,5 $\pm$ 10,3	3,32 $\pm$ 0,23
R	25 - 40	107 $\pm$ 7,20 *	187 $\pm$ 21,6 *	5,12 $\pm$ 0,70 *	1,14 $\pm$ 0,13 *
A		546 $\pm$ 228	254 $\pm$ 16,1	33,7 $\pm$ 7,0	2,51 $\pm$ 0,25

## **7.5. VARIABILIDAD ESPACIAL EN ACEBUCHES Y ENCINAS**

En este apartado se consideran los resultados obtenidos en las muestras tomadas en el año 2001, último año muestreado, en el que las plantas no experimentaron los efectos de la contaminación atmosférica derivada de las labores de limpieza de los suelos (Querol *et al.*, 1999; Madejón *et al.*, 2003c; ver también capítulos 5 y 6).

Conviene indicar que aunque la aplicación de enmiendas en la zona afectada por el vertido ha ocasionado un aumento notable del pH en el suelo, el entorno cubierto por la copa de los árboles sigue teniendo un pH marcadamente ácido (Tabla 7.1), consecuencia posiblemente, de su inaccesibilidad para las máquinas. Por consiguiente, cabe suponer que gran parte del sistema radical de estos árboles sigue bajo los efectos de un pH ácido (Madejón *et al.*, 2003b).

### **7.5.1. Concentración de nutrientes**

#### **7.5.1.1. Hojas**

Las concentraciones de N, P y K de las hojas de acebuche de la zona afectada por el vertido fueron más bajas que las de los acebuches del suelo de referencia, no afectado, siendo significativa la diferencia para N y P. Esta tendencia se mantuvo para el N de las hojas de encina, pero no así para P y K, que resultaron similares (P) o incluso mayor en los árboles de la zona afectada (K), aunque en ningún caso se produjeron diferencias significativas (Tabla 7.8).

Los suelos de las terrazas bajas, a pesar de estar más contaminados, fueron algo más fértiles en N y P (Tabla 7.2), sin embargo la acumulación de estos elementos en las hojas de acebuche es menor. Esta tendencia a disminuir las concentraciones de macronutrientes básicos como P y especialmente N, ante la presencia de elementos traza también se ha observado para otras especies de árboles (álamo blanco, apartado 6.5), y de la grama (apartado 5.4.3).

Determinados metales, como el Cd (uno de los elementos más representativos de la contaminación residual existente en la cuenca del Guadiamar) pueden limitar la absorción de nitratos por la planta (Bhandal y Kaur, 1992; Fodor *et al.*, 1995; Boussama *et al.*, 1999; Stolt y Oscarson, 2002), lo que

se traducirá en una acumulación menor de N total en los diversos órganos de la planta.

La acción inhibidora del Cd, más que un efecto directo del metal sobre los transportadores de nitratos, parece ser consecuencia indirecta de su interacción con la membrana plasmática, que afectaría a su fluidez y sistemas ATPasa-H<sup>+</sup> (Fodor *et al.*, 1995; Stolt y Oscarson, 2002).

Además del N, otros nutrientes básicos, como el K, también pueden verse afectados por la presencia de determinados elementos traza (Vassilev *et al.*, 2002). En el caso del acebuche se apreció esta tendencia, pero para la encina fue lo contrario (aunque sin diferencias significativas en ambos casos; Tabla 7.8).

**Tabla 7.8.** Concentración de nutrientes en **hojas** de acebuche y encina (muestras de 2001). Valores medios  $\pm$  error estándar (n=5). Para cada elemento y suelo (R, suelo de referencia, no afectado; A, suelo afectado) las diferencias significativas están marcadas con asterisco ( $p < 0,05$ ).

Especie	Suelo	N (g 100g <sup>-1</sup> )	P (g 100g <sup>-1</sup> )	K (g 100g <sup>-1</sup> )
Acebuche	R	1,53 $\pm$ 0,07 *	0,08 $\pm$ 0,006 *	0,83 $\pm$ 0,08
	A	1,29 $\pm$ 0,07	0,06 $\pm$ 0,005	0,71 $\pm$ 0,09
Encina	R	1,51 $\pm$ 0,07	0,06 $\pm$ 0,005	0,34 $\pm$ 0,05
	A	1,38 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,006	0,41 $\pm$ 0,04

Especie	Suelo	Ca (g 100g <sup>-1</sup> )	Mg (g 100g <sup>-1</sup> )	S (g 100g <sup>-1</sup> )
Acebuche	R	1,50 $\pm$ 0,18	0,21 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02
	A	1,40 $\pm$ 0,11	0,21 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,02
Encina	R	0,74 $\pm$ 0,12	0,12 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,006 *
	A	0,83 $\pm$ 0,08	0,15 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,111

Hay que tener en cuenta que, además de una posible influencia de los metales presentes sobre la absorción radical de nutrientes (N especialmente), la redistribución de los mismos durante la fase de fructificación también puede haber influido en las concentraciones finales obtenidas en las hojas, aspecto que, como se discute más adelante, pudo ser más acusado en el caso del acebuche.

Las diferencias de P entre plantas afectadas y no afectadas tampoco fueron importantes (aunque significativa en el caso del acebuche, Tabla 7.8), a pesar de que la presencia de As (elemento, junto a Cd, Pb y Zn, representativo de la contaminación residual de la zona) puede competir con la absorción de P (Ernst *et al.*, 1992).

Los restantes macronutrientes considerados: Ca, Mg y S, tampoco experimentaron variaciones importantes en función del nivel de la contaminación del suelo. Las concentraciones de Ca fueron del mismo orden en ambos grupos de plantas, afectadas y no afectadas por el vertido, tanto en acebuche como en encina (Tabla 7.8). Estos resultados contrastan con los obtenidos para la grama y el álamo, para los que se obtuvieron concentraciones de Ca más altas en los suelos afectados por el vertido. Puede que el carácter calcáreo de aquellos suelos facilitase la toma de Ca por la planta ante la ligera acidificación causada por el vertido. De cualquier forma, para este elemento se han obtenido comportamientos muy diversos (Greger y Lindberg, 1987; Carbonell *et al.*, 1998; Vassilev *et al.*, 2002).

Más llamativo resultó el hecho de que las concentraciones de S resultaron del mismo orden (acebuche) o incluso superiores en las hojas de los árboles no afectados (encina), a pesar de que las concentraciones de S eran mucho más altas en los suelos afectados por el vertido (hasta 10 veces superior, Tabla 7.3). Desconocemos si la presencia de As en los suelos afectados pudo influir en la absorción radical de S ( $\text{SO}_4^-$ ), a la que podría haber limitado incluso en mayor medida que la de P.

Las hojas de los árboles afectados fueron algo más pequeñas (50 mg frente a 55 mg para el acebuche y 106 frente a 130 mg para la encina), pero las diferencias no fueron significativas; estas pequeñas diferencias en masa foliar podrían contribuir a una mayor concentración de elementos minerales.

#### 7.5.1.2. Frutos

En el caso del acebuche se han estudiado por separado la pulpa y la semilla, mientras que para la encina sólo se ha considerado la semilla.

Las concentraciones de N, P y K de la pulpa y semillas del acebuche resultaron, en general, similares en las plantas afectadas y no afectadas, sin que en ningún caso se produjeran diferencias significativas. No obstante, para el N volvió a detectarse la misma tendencia observada en las hojas, concentraciones algo más bajas en las plantas de la zona afectada (Tabla 7.9).

Resultados similares se obtuvieron para Ca, Mg y S, cuyas concentraciones fueron del mismo orden en ambas zonas. Como en el caso de la hoja, las

concentraciones de S fueron algo más altas en la pulpa y semilla de las plantas de la zona no afectada por el vertido (Tabla 7.9).

Cabe destacar que, en general, las concentraciones de macronutrientes fueron mayores (o iguales, caso del Ca), en la semilla que en la pulpa, excepto para el K, más abundante en los tejidos de la pulpa.

Las concentraciones de la semilla de la bellota también resultaron del mismo orden en las plantas afectadas y no afectadas por el vertido; sólo en el caso del N volvió a registrarse la tendencia descrita anteriormente, esto es, concentración ligeramente más baja en la semilla de las plantas afectadas, aunque sin alcanzarse una diferencia estadísticamente significativa (Tabla 7.10).

**Tabla 7.9.** Concentración de nutrientes en **frutos** (pulpa y semilla) de acebuche. Valores medios  $\pm$  error estándar (n=5). Para cada elemento y suelo (R, suelo de referencia, no afectado; A, suelo afectado) las diferencias significativas están marcadas con asterisco ( $p < 0,05$ ).

Acebuche	Suelo	N ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	P ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	K ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )
Pulpa	R	$0,58 \pm 0,05$	$0,046 \pm 0,002$	$1,98 \pm 0,11$
	A	$0,52 \pm 0,06$	$0,043 \pm 0,006$	$2,03 \pm 0,08$
Semilla	R	$3,00 \pm 0,21$	$0,30 \pm 0,020$	$0,62 \pm 0,04$
	A	$2,64 \pm 0,12$	$0,31 \pm 0,008$	$0,56 \pm 0,03$
Acebuche	Suelo	Ca ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	Mg ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	S ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )
Pulpa	R	$0,13 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,006$	$0,10 \pm 0,008$
	A	$0,18 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,008$	$0,09 \pm 0,008$
Semilla	R	$0,21 \pm 0,01$	$0,16 \pm 0,010$	$0,37 \pm 0,02$
	A	$0,20 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,009$	$0,31 \pm 0,03$

En conjunto, los resultados obtenidos, tanto para hojas como para frutos, parecen demostrar que, en general, la contaminación por el vertido no ha afectado negativamente al estado nutritivo de los árboles estudiados de ambas especies. Sólo en el caso del N se ha observado de forma generalizada, una tendencia a la aparición de concentraciones más bajas en las hojas y frutos de las plantas afectadas, aunque sólo en un caso (hojas de acebuche) resultó significativa la diferencia.

**Tabla 7.10.** Concentración de nutrientes en **frutos** de encina. Valores medios  $\pm$  error estándar (n=5). Para cada elemento y suelo (R, suelo de referencia, no afectado; A, suelo afectado) las diferencias significativas están marcadas con asterisco ( $p < 0,05$ )

Suelo	N ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	P ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	K ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )
R	$0,67 \pm 0,05$	$0,065 \pm 0,003$	$0,65 \pm 0,05$
A	$0,57 \pm 0,06$	$0,067 \pm 0,003$	$0,65 \pm 0,03$
Suelo	Ca ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	Mg ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )	S ( $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ )
R	$0,08 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,003$	$0,05 \pm 0,003$
A	$0,08 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,004$	$0,05 \pm 0,006$

En las hojas, esta disminución de la concentración de N pudiera haber sido consecuencia de una menor absorción y acumulación de N (aspecto reflejado en las hojas jóvenes, según se discute más adelante). En los frutos, acebuchinas especialmente, parece debido a un proceso de dilución, ya que para un peso medio de fruto mayor en la zona afectada (0,36 g frente 0,26 g en el suelo de referencia, peso total de fruto) el contenido de N (y resto de nutrientes) también fue ligeramente más alto en esta zona (Tabla 7.11). Una mayor biomasa y acumulación, frente a una disminución en la concentración, son aspectos indicadores un proceso de dilución de un nutriente (Jarrell y Beverly, 1981).

**Tabla 7.11.** Contenido total de nutrientes por fruto (mg). Valores medios  $\pm$  error estándar (n=5). Para cada elemento y suelo (R, suelo de referencia, no afectado; A, suelo afectado) las diferencias significativas están marcadas con asterisco ( $p < 0,05$ ).

Especie	Suelo	N	P	K
Acebuche (Pulpa)	R	$0,52 \pm 0,11$	$0,04 \pm 0,010$	$1,83 \pm 0,43 *$
	A	$0,56 \pm 0,11$	$0,04 \pm 0,009$	$2,10 \pm 0,30$
Encina (Semilla)	R	$23,5 \pm 3,2$	$2,40 \pm 0,39$	$23,8 \pm 4,0$
	A	$21,8 \pm 4,4$	$2,58 \pm 0,45$	$25,6 \pm 4,9$
	Suelo	Ca	Mg	S
Acebuche (Pulpa)	R	$0,11 \pm 0,02 *$	$0,04 \pm 0,008$	$0,08 \pm 0,01$
	A	$0,18 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,007$	$0,09 \pm 0,01$
Encina (Semilla)	R	$2,50 \pm 0,29$	$1,87 \pm 0,24$	$1,68 \pm 0,25$
	A	$2,73 \pm 0,37$	$2,16 \pm 0,43$	$1,92 \pm 0,38$

La obtención de frutos con mayor peso en la zona afectada, especialmente en el caso de las acebuchinas (la diferencia para la bellota fue menor y no significativa: 3,94 g, en la zona afectada, y 3,63 g, en la zona de referencia), y mayor contenido de



elementos minerales en los mismos (circunstancia que pudo haber influido, al menos parcialmente, sobre las concentraciones registradas en las hojas) parecen demostrar que la contaminación por el vertido no afectó negativamente a la nutrición de los árboles afectados.

### **7.5.2. Concentración de elementos traza**

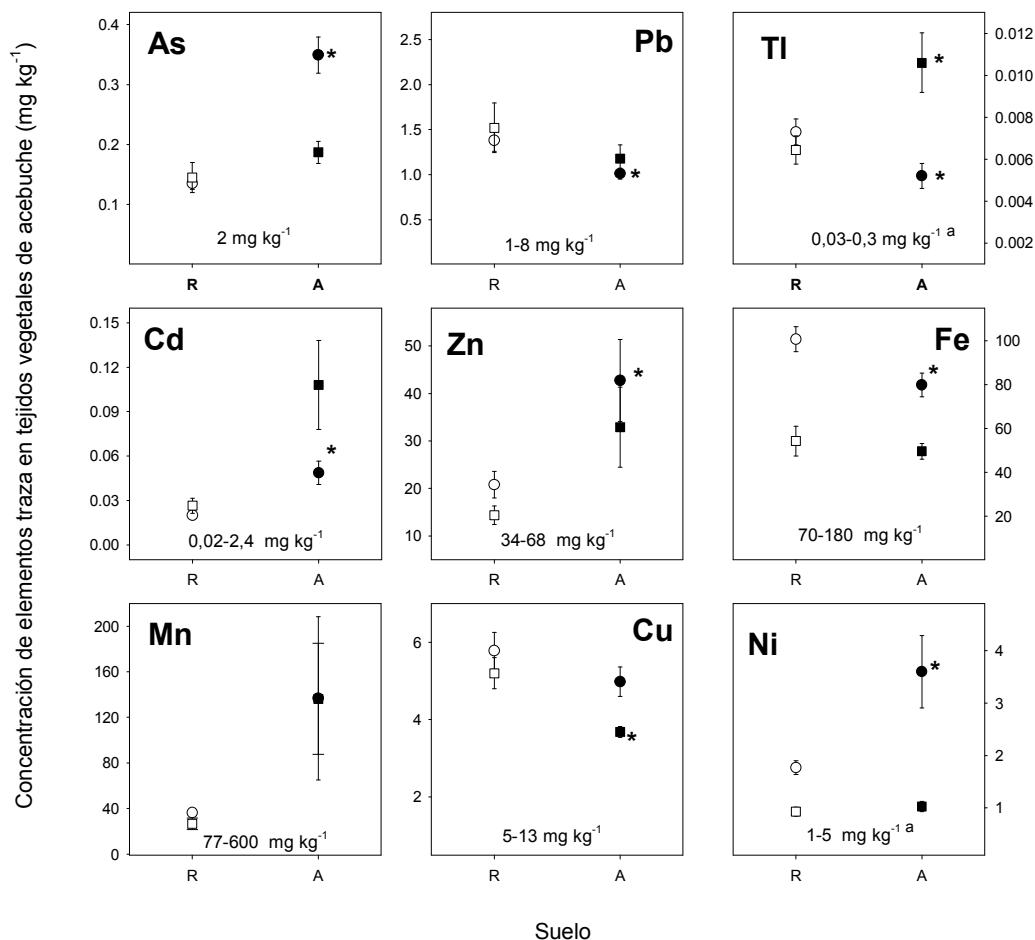
En este apartado se estudia la acumulación de elementos traza en las hojas, tallos y frutos de acebuches y encinas, aspecto importante dada la elevada concentración de los mismos en el suelo afectado por el vertido y su carácter ácido.

Siguiendo el mismo criterio que para macronutrientes, en este apartado se recogen los resultados correspondientes a las muestras del año 2001, una vez concluidas las labores de limpieza, que según se indicó anteriormente, debieron generar una importante contaminación atmosférica en los años anteriores (potenciando posiblemente la absorción foliar de elementos traza). Conviene recordar que los resultados de este apartado se refieren a muestras lavadas (descontaminadas), de forma que las concentraciones consideradas serían básicamente, las que están presentes en los tejidos vegetales.

#### **7.5.2.1. Hojas**

##### ***a) Acebuche***

En el caso del acebuche, las concentraciones de As, Cd, Zn y Ni fueron mayores, significativamente, en las hojas de las plantas afectadas por el vertido (Fig. 7.2).



**Figura 7.2.** Concentraciones medias y error estándar de elemento traza en hojas (○) y tallos (□) de **acebuche** en suelos no afectados (R, en blanco,  $n = 5$ ) y en suelos afectados por el vertido (A, en negro,  $n = 5$ ). Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre hojas y tallos de distinto suelo se indican mediante asterisco. En la parte inferior de cada gráfica aparecen los valores normales en plantas (para angiospermas leñosas según Bowen, 1979, y <sup>a</sup> Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

Las concentraciones de Pb, Tl y Fe resultaron mayores significativamente (aunque no en el caso del Cu), en las plantas de los suelos no afectados. Sin embargo, las concentraciones de estos elementos oscilaron en intervalos muy

discretos (1,0-1,4 mg kg<sup>-1</sup> para el Pb, 0,005-0,007 mg kg<sup>-1</sup> para el Tl y 80-100 mg kg<sup>-1</sup> para el Fe; Fig. 7.2).

En general, todos los elementos traza estudiados en las hojas de acebuche alcanzaron niveles comparativamente bajos en la zona afectada por el vertido, con máximos puntuales de 0,44 mg kg<sup>-1</sup> para el As, 0,07 mg kg<sup>-1</sup> para el Cd, 5,7 mg kg<sup>-1</sup> para el Cu, 1,2 mg kg<sup>-1</sup> para el Pb y 72,5 mg kg<sup>-1</sup> para el Zn. En zonas contaminadas con metales pesados se han llegado a detectar en hojas de olivo concentraciones de Pb próximas a 13 mg kg<sup>-1</sup>, 111 de Zn y 19 mg kg<sup>-1</sup> Cu (Stratis *et al.*, 1996).

Las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn registradas en hojas (y tallos) de los acebuches afectados no fueron superiores a las obtenidas por Bargagli (1995) en hojas de olivo de zonas no contaminadas (intervalos de 0,02-0,10 mg kg<sup>-1</sup> para el Cd, 5,1-13,9 mg kg<sup>-1</sup> para el Cu, 0,23-2,10 mg kg<sup>-1</sup> para el Pb y 14,7-38,2 mg kg<sup>-1</sup> de Zn). Sólo las concentraciones de Zn fueron algo mayores en ocasiones, aunque nunca superiores a los valores normales de plantas facilitadas por Bowen (1979).

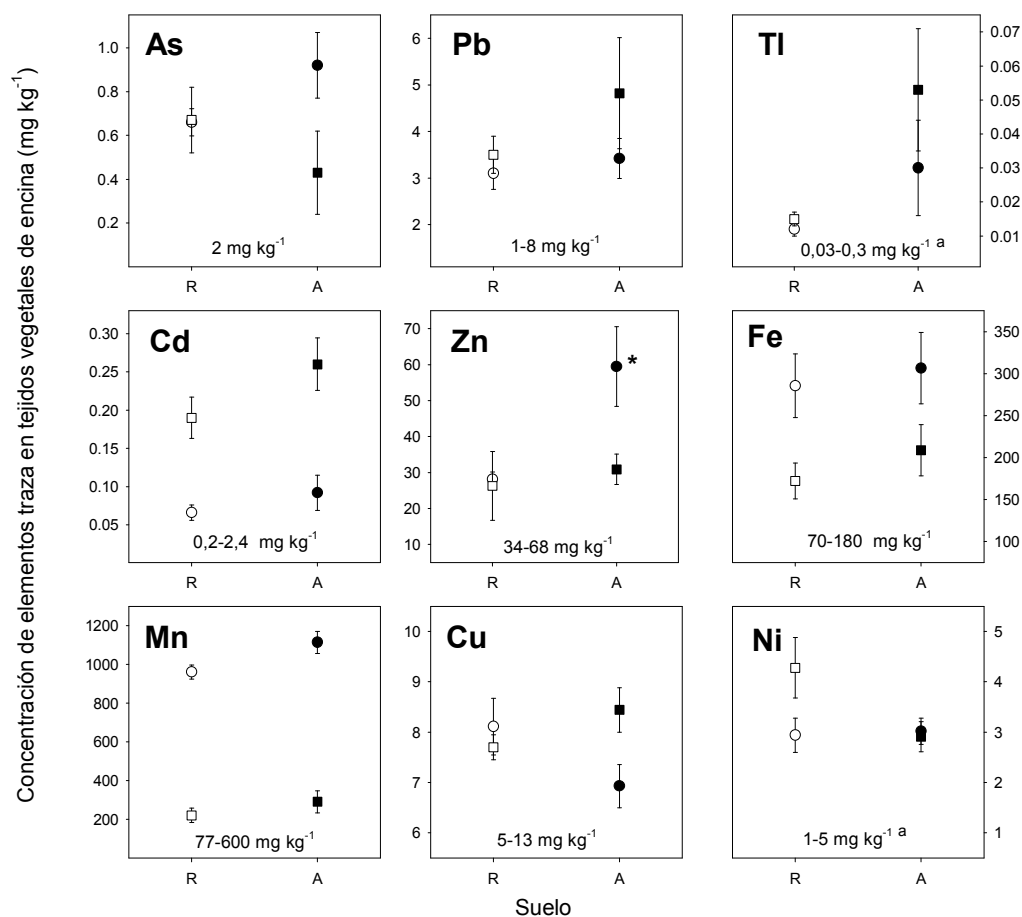
#### *b) Encina*

Las concentraciones de elementos traza en las hojas de encina resultaron mayores que las obtenidas para el acebuche, excepto las de Ni, que fueron del mismo orden (Figs. 7.2 y 7.3).

La mayor acumulación de elementos como Tl, Fe, Cd y Mn en las hojas parece indicar una mayor capacidad de absorción y/o transporte de la encina, respecto del acebuche; los niveles de Tl, Fe y sobre todo Mn en la encina superaron en un orden de magnitud a los alcanzados en la hoja del acebuche (Figs. 7.2 y 7.3).

Cabe destacar la enorme capacidad de acumulación de Mn de la encina, habiéndose alcanzado concentraciones superiores a los 1000 mg kg<sup>-1</sup> tanto en la zona afectada como en la no afectada. Las concentraciones referidas por otros autores para hojas de *Q. ilex* fueron algo más bajas, oscilando en un intervalo de 400-600 mg kg<sup>-1</sup> (Tabla 7.12). Soldevilla *et al.* (1992) también obtuvieron concentraciones muy altas de Mn en hojas de *Q. suber* procedentes de la zona minera de Río Tinto (del orden de 1800 mg kg<sup>-1</sup>). Las concentraciones de Fe registradas también fueron superiores a las obtenidas por otros autores (Tabla 7.12). Ambos elementos, Mn y Fe, fueron los únicos que superaron en las hojas de

las encinas del Guadiamar los niveles considerados normales para plantas superiores (Bowen 1979; Kabata-Pendias y Pendias, 1992 ).



**Figura 7.3.** Concentraciones medias y error estándar de elemento traza en hojas (○) y tallos (□) de **encina** en suelos no afectados (R, en blanco,  $n = 5$ ) y en suelos afectados por el vertido (A, en negro,  $n = 5$ ). Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre hojas y tallos de distinto suelo se indican mediante asterisco. En la parte inferior de cada gráfica aparecen los valores normales en plantas (para angiospermas leñosas según Bowen, 1979, y <sup>a</sup> Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

En general, las concentraciones de elementos traza fueron algo mayores en la zona afectada que en la no afectada (excepto el Cu, más baja en la zona

afectada); sólo en el caso del Zn, la concentración de la hoja de las plantas afectadas aumentó significativamente (aproximadamente el doble, respecto a las no afectadas; Fig. 7.2), aunque siempre dentro de límites discretos (intervalo de 30-98,6 mg kg<sup>-1</sup>, zona afectada). Se trata de concentraciones superiores a las referidas por otros autores para *Q.ilex* (Tabla 7.12), pero muy lejos de los niveles que se consideran tóxicos para plantas superiores (100-400 mg kg<sup>-1</sup>, Kabata-Pendias y Pendias, 1992). Las concentraciones de Cd, Cu y Pb coinciden básicamente, con las que se muestran en la Tabla 7.12 para esta especie.

**Tabla 7.12.** Concentraciones de elementos traza (mg kg<sup>-1</sup>) en hojas de *Q.ilex* según diversos autores.

Autor	Cd	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
Bussotti <i>et al.</i> 1992	0,10	5,3	79	580	0,6	16
Monaci y Bargagli, 1997	0,10	8,2	68	529	0,5	29
Monaci <i>et al.</i> , 2000	0,03	5,6	107	433	5,6	26
Santamaría y Martin, 1998	0,08	5,8	148	547	1,1	25

### c) Comparación entre especies

Las concentraciones de elementos traza en las hojas de la encina fueron, en general, más altas que las del acebuche, especialmente las de As, Tl, Fe y Mn (en un orden de magnitud). Las concentraciones de Cd lo fueron de 2 a 4 veces, mientras que las concentraciones de Cu sólo resultaron ligeramente superiores, y prácticamente del mismo orden las de Zn y Ni. Esta circunstancia contrasta con la observada para los macronutrientes, cuyas concentraciones fueron ligeramente superiores en las hojas de acebuche. Este hecho puede ser debido, en parte, a las características de la hoja, ya que la acumulación de elementos traza por deposición aérea es mayor en hojas con mayor área superficial y, sobre todo, con cutícula áspera y pilosidades (caso de la hoja de la encina) que en aquellas hojas de área más pequeña y cutícula lisa, como sería el caso de la hoja de acebuche (Bargagli, 1998).

La contaminación atmosférica afecta en mayor medida a aquellos elementos cuya presencia en los suelos es muy alta, en relación con los contenidos normales que presenta la vegetación (Cherney y Robinson, 1983). Por consiguiente, las características peculiares de la hoja de encina pudo facilitar (más que en el caso del acebuche) la deposición de partículas de suelo y lodo, muy rico en As y otros

metales, lo que pudo incidir en especial sobre la concentración de elementos traza, más que sobre la de macronutrientes.

Determinadas especies del género *Quercus* parecen ser capaces de evitar la absorción radical, y posterior traslocación a la hoja de elementos no esenciales o potencialmente tóxicos para la planta (Bargagli *et al.*, 2003). Esto hace que, en general, las especies del género *Quercus* (sobre todo sus hojas) sean muy utilizadas como plantas biomonitoras de posición aérea de elementos traza (Loppi *et al.*, 1997; Monaci *et al.*, 1997; Bargagli *et al.*, 1998).

#### 7.5.2.2. Tallos

##### *a) Acebuche*

Las concentraciones de As, Tl, Cd, Zn y Mn de los tallos del acebuche fueron superiores en la zona afectada que en la no afectada, aunque la diferencia sólo resultó significativa para el Tl (Fig. 7.2). El mayor nivel de Tl contrasta con el menor nivel observado en la hoja: en ambos casos las concentraciones de Tl son inferiores al intervalo considerado normal para plantas superiores (Bowen, 1979; Kabata-Pendias y Pendias, 1992; Fig. 7.2).

Las concentraciones de Pb y Cu fueron más altas en los tallos de los árboles no afectados por el vertido. Las concentraciones de Ni fueron del mismo orden en ambos grupos de plantas (Fig. 7.2).

Comparando los tallos con las hojas, las concentraciones de elementos traza en los tallos fueron del mismo orden (Pb, Cu y Mn) o más bajas (As, Zn, Fe y Ni). Sólo en el caso de los tallos de los árboles afectados se detectaron concentraciones de Tl y Cd mayores que en las hojas (Fig. 7.2).

##### *b) Encina*

También se registraron concentraciones de Tl y Cd más altas en los tallos que en las hojas de las encinas, incluso en los árboles no afectados, en el caso del Cd. También se observó este hecho para Pb y Cu en los árboles de la zona afectada (Fig. 7.3).

En general, como en el caso de las hojas, las concentraciones de elementos traza en los tallos de la encina fueron siempre discretas, incluso las de Mn (que en

hojas fueron muy altas), lejos de los umbrales de fitotoxicidad establecidos para los elementos considerados (Kabata-Pendias y Pendias, 1992) y siempre dentro de los intervalos considerados normales en plantas. Por ejemplo las concentraciones de As de los tallos de los árboles afectados fueron inferiores a las obtenidas en los árboles no afectados por el vertido (Fig. 7.3).

#### 7.5.2.3. Frutos

En este apartado se estudian los frutos del acebuche (pulpa y semilla) y la semilla de la encina. Hay que tener en cuenta que las semillas de las bellotas están cubiertas por un pericarpio endurecido y que las acebuchinas están cubiertas por una pulpa carnosa, untuosa al tacto y tienen un endocarpo leñoso que protege la semilla.

Entre los elementos más tóxicos, As y Cd alcanzaron concentraciones más altas, significativamente, en la pulpa de las acebuchinas de la zona afectada, que en las de la no afectada. Estos incrementos fueron mucho más acusados en la propia semilla que en la pulpa, especialmente en el caso del Cd (concentración 2,4 veces más alta en la pulpa y 47 veces más alta en la semilla, Tabla 7.13). Resultados similares en cuanto a concentraciones de Cd en frutos han sido obtenidos por Pillay *et al.* (2002) en dátiles.

Las plantas tolerantes no excluyen totalmente los metales de los órganos reproductivos, aunque su concentración en los frutos suele ser más baja que en los órganos vegetativos. Además, en los frutos, la semilla suele presentar concentraciones más bajas que en las restantes partes del mismo (Ernst *et al.*, 1992).

Sin embargo, resulta llamativo que las concentraciones de As y sobre todo Cd hayan resultado tan elevadas, comparativamente, en las semillas de las acebuchinas afectadas por el vertido (Tabla 7.13). Elementos como Pb y Tl sí parecen que son excluidos de alguna forma, ya que sus concentraciones resultaron incluso más bajas que las registradas en las semillas de las plantas no afectadas (Tabla 7.13).

En las semillas de las encinas afectadas por el vertido no se registraron aumentos significativos de concentración para As, Pb (en este caso incluso más alta en las encinas no afectadas) y Cd. Sólo en el caso del Tl se registró un aumento significativo de concentración en el área afectada.

**Tabla 7.13.** Concentración ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) de elementos traza en frutos de acebuche y encina. Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ). Para cada elemento y suelo (R, suelo de referencia, no afectado; A, suelo afectado) las diferencias significativas están marcadas con asterisco ( $p < 0,05$ ).

Especie	Fracción	Suelo	As	Pb	Tl	Cd
Acebuche	Pulpa	R	50,6 $\pm$ 18,8*	294 $\pm$ 66	2,90 $\pm$ 0,5	11,6 $\pm$ 6,0*
		A	129 $\pm$ 17,5	297 $\pm$ 48	4,40 $\pm$ 0,1	27,6 $\pm$ 3,1
	Semilla	R	32,1 $\pm$ 6,3*	152 $\pm$ 43,8	4,10 $\pm$ 0,9	0,70 $\pm$ 0,04*
		A	170 $\pm$ 29	88,2 $\pm$ 16,4	3,00 $\pm$ 0,5	32,6 $\pm$ 6,0
Encina	Semilla	R	21,2 $\pm$ 7,7	186 $\pm$ 27,1*	2,44 $\pm$ 0,6*	17,6 $\pm$ 5,1
		A	33,6 $\pm$ 8,4	90,7 $\pm$ 17,1	10,6 $\pm$ 2,8	14,0 $\pm$ 4,2

Los metales Zn, Fe, Mn, Cu y Ni se acumularon en mayores cantidades, en los frutos de ambas especies, que los elementos más tóxicos As, Pb, Tl y Cd. Salvo en el caso del Mn, para el que la encina tiene especial capacidad de acumulación, las mayores concentraciones correspondieron a los frutos de acebuchina, tanto afectados como no afectados. Se produjeron aumentos significativos de concentración en la zona afectada, para Zn (pulpa y semilla) y Ni (pulpa); siendo estos aumentos discretos en el caso del Zn y más acusado el del Ni en la pulpa (Tabla 7.14).

**Tabla 7.14.** Concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de micronutrientes en frutos de acebuche y encina. Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ). Para cada elemento y suelo (R, suelo de referencia, no afectado; A, suelo afectado) las diferencias significativas están marcadas con asterisco ( $p < 0,05$ ).

Especie	Fracción	Suelo	Zn	Fe	Mn	Cu	Ni
Acebuche	Pulpa	R	15,8 $\pm$ 1,4*	27,8 $\pm$ 4,0	6,2 $\pm$ 0,5	10,6 $\pm$ 0,6	0,9 $\pm$ 0,09*
		A	25,0 $\pm$ 3,1	21,9 $\pm$ 3,3	17,5 $\pm$ 5,5	12,1 $\pm$ 1,7	2,6 $\pm$ 0,60
	Semilla	R	34,0 $\pm$ 5,5*	47,4 $\pm$ 5,3	18,4 $\pm$ 2,4	17,2 $\pm$ 0,6	2,5 $\pm$ 0,2
		A	57,6 $\pm$ 6,9	52,5 $\pm$ 2,4	59,5 $\pm$ 28	20,0 $\pm$ 1,9	6,4 $\pm$ 1,9
Encina	Semilla	R	9,3 $\pm$ 0,6	8,1 $\pm$ 1,2	91,4 $\pm$ 15,6	4,7 $\pm$ 0,3	1,7 $\pm$ 0,1
		A	9,3 $\pm$ 1,1	6,4 $\pm$ 1,0	99,0 $\pm$ 32,2	5,8 $\pm$ 0,3	1,8 $\pm$ 0,3

En el pericarpio de la encina, que sólo representa una pequeña parte del peso del fruto, las concentraciones de elementos traza fueron bajas y no se registraron diferencias entre las plantas afectadas y no afectadas (datos no presentados).



El examen de los contenidos totales de elementos en los frutos, corrobora que en el caso de las acebuchinas, ha podido de existir un proceso efectivo de acumulación de los elementos más tóxicos, As, Pb, Tl y Cd (en la zona afectada), puesto que el mayor peso medio de los frutos en esta zona no condujo a la dilución (de concentración) de ninguno de los elementos considerados, siendo, obviamente, mayor la acumulación global de los mismos (Tabla 7.15). Como indican Jarrell y Beverly (1981), mayores valores de concentración, acumulación y producción (para los frutos en este caso), indican la existencia de mecanismos que favorecen la adquisición de un determinado elemento.

**Tabla 7.15.** Contenidos totales (ng) medios de elementos traza por fruto pulpa en el caso del acebuche y semilla sin pericarpio en el de la encina). Valores medios  $\pm$  error estándar (n = 5). Para cada elemento y suelo (R, suelo de referencia, no afectado; A, suelo afectado) las diferencias significativas están marcadas con asterisco ( $p < 0,05$ ).

Especie	Suelo	As	Pb	Tl	Cd
Acebuche	R	3,32 $\pm$ 0,38*	23,6 $\pm$ 5,0	0,25 $\pm$ 0,07	0,75 $\pm$ 0,20 *
	A	13,9 $\pm$ 3,40	31,8 $\pm$ 7,3	0,42 $\pm$ 0,13	2,96 $\pm$ 0,66
Encina	R	82,3 $\pm$ 33	620 $\pm$ 60	8,0 $\pm$ 2,0	63,2 $\pm$ 24,5
	A	151 $\pm$ 70	357 $\pm$ 97	45 $\pm$ 21	51,4 $\pm$ 18,6

De los restantes elementos examinados, resultaron especialmente altos los contenidos de Mn y Ni de la pulpa de las acebuchinas afectadas por el vertido, casi 4 veces más altos que los registrados en las acebuchinas no afectadas, aunque las diferencias no resultaron significativas para ninguno de los dos metales (Tabla 7.16).

**Tabla 7.16.** Contenidos totales ( $\mu$ g) medios de micronutrientes por fruto; pulpa en el caso del acebuche y semilla sin pericarpio en el de la encina). Valores medios  $\pm$  error estándar (n = 5). Para cada elemento y suelo (R, suelo de referencia, no afectado; A, suelo afectado) las diferencias significativas están marcadas con asterisco ( $p < 0,05$ ).

Especie	Suelo	Zn	Fe	Mn	Cu	Ni
Acebuche	R	1,37 $\pm$ 0,26	2,30 $\pm$ 0,35	0,54 $\pm$ 0,11	0,94 $\pm$ 0,22	0,08 $\pm$ 0,02
	A	2,65 $\pm$ 0,52	2,40 $\pm$ 0,59	1,95 $\pm$ 0,77	1,29 $\pm$ 0,30	0,29 $\pm$ 0,08
Encina	R	33 $\pm$ 5,0	27,1 $\pm$ 3,5	300 $\pm$ 40	17 $\pm$ 3,0	6,2 $\pm$ 1,0
	A	36 $\pm$ 7,0	25,1 $\pm$ 7,0	350 $\pm$ 130	23 $\pm$ 4,4	6,5 $\pm$ 1,2

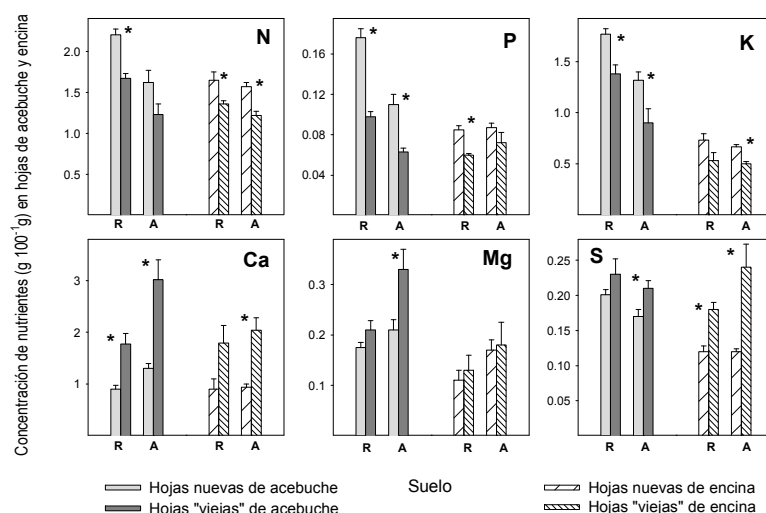
En el caso de la encina, sólo se observaron aumentos apreciables, aunque no significativos, en los contenidos de As y Tl (Tabla 7.15). Estos resultados parecen indicar la existencia en la semilla de barreras efectivas para los restantes metales examinados.

## 7.6. CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES Y ELEMENTOS TRAZA EN FUNCIÓN DE LA EDAD DE LA HOJA

Los datos que se presentan en este apartado corresponden a resultados de un muestreo realizado durante la primavera del año 2000. El objetivo de este muestreo fue disponer de hojas de nuevo crecimiento y hojas "viejas", de la primavera anterior (o más antiguas), para estudiar la concentración de nutrientes y elementos traza en función de su estado de desarrollo dentro de una misma época. En este caso, la diferencia entre hojas "viejas" y hojas nuevas fue mucho más precisa que en muestreos anteriores.

### 7.6.1. Nutrientes

Las concentraciones de los nutrientes básicos N, P y K fueron siempre mayores en las hojas de nuevo crecimiento, tanto en las hojas afectadas por el vertido como en las no afectadas, con diferencias significativas en la mayoría de los casos (Fig. 7.4).



**Figura 7.4.** Concentraciones de nutrientes (barras con valores medios y error estándar,  $n = 5$ ) en hojas nuevas y "viejas" de acebuche y encina, creciendo sobre suelos no afectados (R) y suelos afectados por el vertido (A). La simbología de cada una de las fracciones se indica al pie de la gráfica. Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre hojas nuevas y viejas para cada especie se indican mediante asterisco.

Pugnaire (2001) ha descrito un modelo general para el comportamiento de nutrientes en función de la edad de la hoja. Aquellos nutrientes que participan activamente en la función metabólica aumentan en las hojas que se están desarrollando, para disminuir después, debido en parte al aumento de la fracción correspondiente a la pared celular y en parte a la translocación de nutrientes desde la hoja a otras partes de la planta antes de su senescencia.

Por el contrario el comportamiento de Ca, Mg y S fue opuesto al del N, P y K, ya que fue en las hojas maduras donde se obtuvieron los contenidos más altos; al ser Ca y Mg elementos menos móviles, aumentan precisamente su concentración con la edad (Pugnaire, 2001). Esta tendencia es independiente de la presencia o ausencia de elementos traza en el suelo.

Cuando se comparan las dos especies (Fig. 7.4), se comprueba que la presencia del lodo residual afectó en mayor medida a las hojas (jóvenes y maduras) del acebuche que a las de encina; mientras que en el primero las concentraciones de N, P y K fueron menores en la zona afectada por el vertido, en la encina fueron prácticamente del mismo orden en las dos zonas.

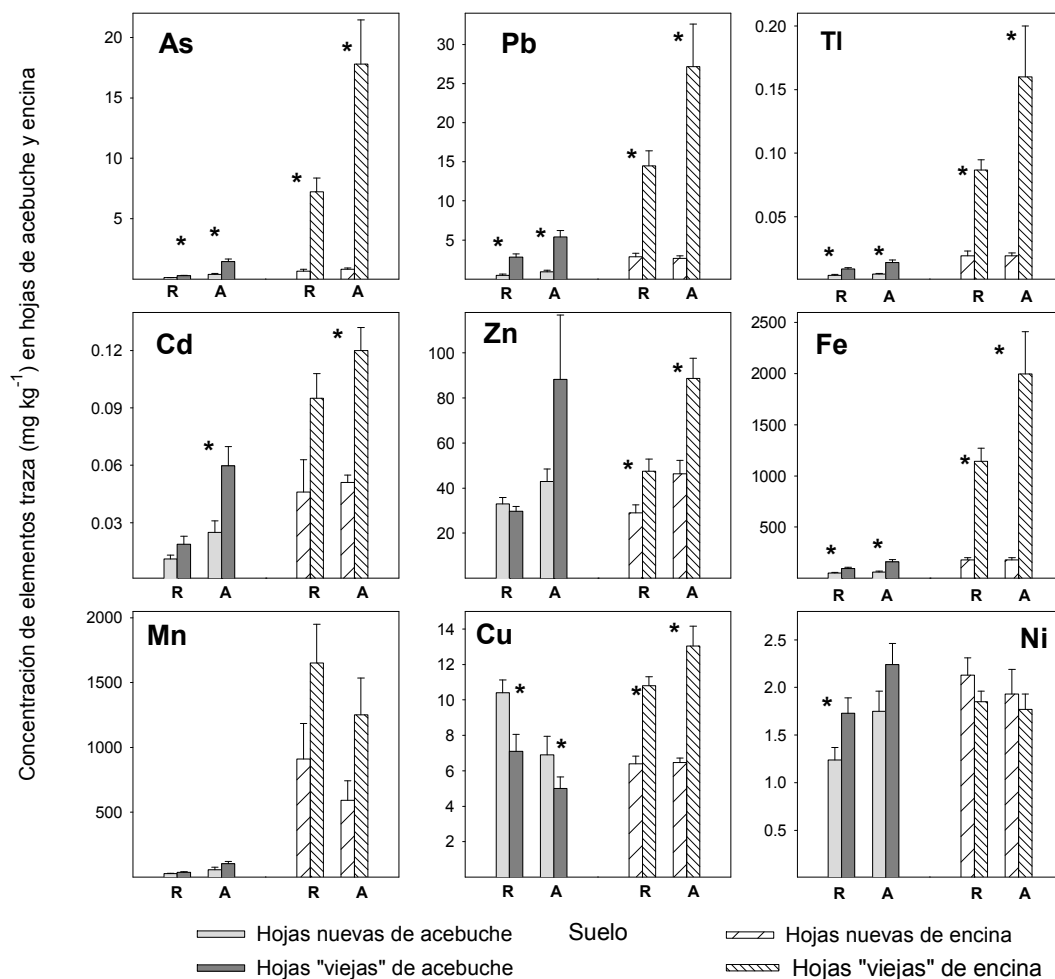
Este hecho pone de manifiesto la mayor sensibilidad de las hojas del acebuche a la presencia de elementos traza, al menos bajo estas condiciones de estudio. Confirma, además, lo indicado en el apartado anterior acerca del efecto negativo del lodo residual sobre la absorción y/o transporte de nutrientes básicos, ya que no solo se manifiesta en hojas maduras (desde donde estos nutrientes podrían haber sido exportados en mayor medida ante el mayor peso del fruto obtenido en la zona afectada), sino también en hojas jóvenes en crecimiento, donde todavía no se produce retranslocación alguna de nutrientes.

#### **7.6.2. Elementos traza**

Los elementos traza estudiados siguieron un patrón similar al observado para los macronutrientes menos móviles, como Ca, esto es, acumulación en las hojas maduras, donde sus concentraciones fueron mayores que las de las hojas jóvenes, con diferencias significativas en muchos casos (Fig. 7.5); excepto el Cu en las hojas de acebuche, y el Ni en las de encina.

Las concentraciones mayores de elementos traza obtenidas en hojas viejas se deben al mayor tiempo de exposición, radical y foliar que experimentan las

mismas (Ernst *et al.*, 1992). El mayor área foliar de las hojas maduras, desarrolladas, potenciaría, además, la absorción foliar.



**Figura 7.5.** Concentraciones de elementos traza (barras con valores medios y error estándar,  $n = 5$ ) en hojas nuevas y "viejas" de acebuche y encina, creciendo sobre suelos no afectados (R) y suelos afectados por el vertido (A). La simbología de cada una de las fracciones se indica al pie de la gráfica. Diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre hojas nuevas y viejas para cada especie se indican mediante asterisco.

En el acebuche, el mayor aumento de concentración en las hojas “viejas” respecto a las jóvenes correspondió al Pb, unas 6 veces mayor en las primeras. El hecho de que esta relación resultase tan alta, tanto en la zona afectada como en la no afectada, hace pensar que, teniendo en cuenta su baja movilidad en el suelo, la deposición aérea y posterior absorción foliar pudo contribuir sustancialmente en las concentraciones alcanzadas.

Las concentraciones de As y Tl también resultaron mayores en las hojas maduras que en las jóvenes, aunque los incrementos fueron menores que el registrado para el Pb, unas dos veces en el suelo no afectado y unas tres veces en el afectado. El hecho de que este aumento fuese mayor en el suelo afectado, parece indicar que, además de su posible absorción foliar, la absorción radical determinó en gran medida las concentraciones alcanzadas. Algo similar puede decirse en el caso del Cd, elemento abundante en los suelos de la zona afectada, aunque no en el caso del Ni, para el que el aumento de concentración en las hojas maduras, respecto a las jóvenes, fue igual en ambas zonas.

En el caso del acebuche el comportamiento de los micronutrientes Fe, Mn, Cu y Zn tendría en parte una explicación fisiológica: durante las fases de intenso crecimiento (hojas nuevas) las concentraciones de Fe y Mn son comparativamente bajas, al contrario que las de Cu y Zn (Kabata-Pendias y Pendias, 1992). No obstante, en el caso del Zn fue determinante la presencia del lodo residual en la zona afectada, muy rico en Zn, elemento muy móvil que las plantas pueden tomar con facilidad.

La acumulación progresiva de elementos traza en las hojas fue más acusada en la encina que en el acebuche, debido en parte a que las hojas de esta especie retienen con mayor facilidad el polvo atmosférico, y así pudo tener más importancia la absorción foliar.

Los mayores aumentos de concentración en las hojas maduras, respecto a las jóvenes, se produjeron en la zona afectada y correspondieron a los elementos As (18 veces), Fe (11 veces), Pb (10 veces) y Tl (8 veces) (Fig. 7.7). Para estos elementos también se registraron aumentos importantes en la zona no afectada, lo que refuerza la idea de que la contaminación atmosférica pudo influir considerablemente en el caso de estos elementos, muy abundantes en el vertido. Monaci *et al.* (2000) también detectaron una importante acumulación progresiva de elementos como Fe y Pb en hojas de encina que crecían en zonas donde la contaminación atmosférica era alta.

Los aumentos de concentración en las hojas maduras fueron discretos para Cd, Zn, Mn y Cu, al menos si se comparan con los experimentados por As, Fe, Pb y Tl. Estos resultados también coinciden, básicamente, con los obtenidos por Monaci *et al.* (2000), quienes también observaron una distribución homogénea de Ni a lo largo del desarrollo de la hoja, como la observada en este estudio (Fig. 7.5).

## **7.7. VARIABILIDAD TEMPORAL**

Las concentraciones de nutrientes y elementos traza que se presentan en este apartado corresponden a las obtenidas en los muestreos de 1999, 2000 y 2001. En los frutos de acebuche, sólo se presenta la evolución de la pulpa, al carecer de datos relativos a la semilla para los años 1999 y 2000.

### **7.7.1. Variaciones en la concentración de nutrientes**

#### 7.7.1.1. Hojas

En general, las concentraciones de N de las hojas de las dos especies estudiadas fueron mayores en el primer año de estudio, respecto a los años 2000 y 2001; las diferencias resultaron significativas, excepto en el caso de las hojas de acebuches afectadas por el vertido. Durante los tres años estudiados, las concentraciones de N de las hojas de los árboles no afectados fueron mayores que las registradas en los árboles afectados.

Estas diferencias de concentración entre árboles afectados y no afectados fueron más acusadas para el acebuche a lo largo de todo el período de estudio, siendo especialmente llamativa la registrada durante el primer año (1999), en que las concentraciones de N de las hojas de los árboles afectados fue sólo de 1,4 %, frente al 2 % en los árboles no afectados (Fig. 7.6).

No puede hablarse en este caso de posibles efectos de concentración o dilución del nutriente, ya que no se produjeron diferencias de peso de hoja entre los árboles de ambas zonas a lo largo del estudio (datos no presentados). Diferencias climatológicas pudieron influir sobre las concentraciones de N de las hojas de los árboles (por ejemplo, aumento previo de las precipitaciones en el muestreo otoñal de 1999); también se detectaron mayores concentraciones de N

durante el primer año en otras especies, como la grama (apartado 5.5.2) y álamo blanco (apartado 6.5.1).

En los árboles afectados, las posibles condiciones negativas impuestas por el vertido, para la absorción de N por parte de esta especie, pudieran minimizar las variaciones climatológicas interanuales, manteniéndose siempre la concentración de N por debajo de 1,5 % (aunque siendo todavía ligeramente más alta en 1999 que en los dos años siguientes, Fig. 7.6).

Los posibles efectos negativos producidos por metales sobre la absorción del N (discutidos en el apartado anterior) debieron ser menos acusados en el caso de la encina, para la que se registraron prácticamente las mismas concentraciones de N en las hojas de los árboles afectados y no afectados durante los dos últimos años. Aunque tanto en las hojas no afectadas como afectadas por el vertido se obtuvieron diferencias significativas entre años (Fig. 7.6).

El comportamiento del P fue muy distinto en acebuches y encina; mientras que en los primeros, las concentraciones de este nutriente en las hojas de los árboles no afectados fueron similares, y más altas que las de los árboles afectados, a lo largo de todo el estudio, en la encina se mantuvieron prácticamente iguales en árboles afectados y no afectados (años 1999 y 2000), o incluso más altas en los árboles afectados (año 2001; Fig. 7.6).

Esta circunstancia vuelve a poner de manifiesto la mayor resistencia de la encina frente a las condiciones creadas por el vertido, que no afectaron la adquisición de P por la planta (alrededor de 0,07 %, durante los tres años de estudio). En el acebuche, por el contrario, sí pudo verse afectada por el vertido la toma de P, especialmente durante el primer año, en el que la concentración en las hojas resultó más baja (inferior a 0,06 %, Fig. 7.6). En general, las diferencias interanuales de P no resultaron significativas en ningún caso (encina y acebuche).

Algo similar se observó en el caso del K, esto es, concentraciones más bajas en las hojas de acebuches afectadas por el vertido que en las no afectadas (especialmente en los dos primeros años), siendo prácticamente iguales, a lo largo de los tres años, en las encinas afectadas y no afectadas (Fig. 7.6). Como en el caso del P, las diferencias interanuales de K no resultaron significativas, para cada especie y zona.

El patrón evolutivo de Ca y Mg mostró una peculiaridad interesante, en el caso del acebuche, respecto a los nutrientes básicos considerados hasta el momento. En este caso, las concentraciones de ambos nutrientes fueron mayores

en las hojas de los árboles afectados, en los años 1999 y 2000, y prácticamente igual, a la de los árboles no afectados en el año 2001 (Fig. 7.6).

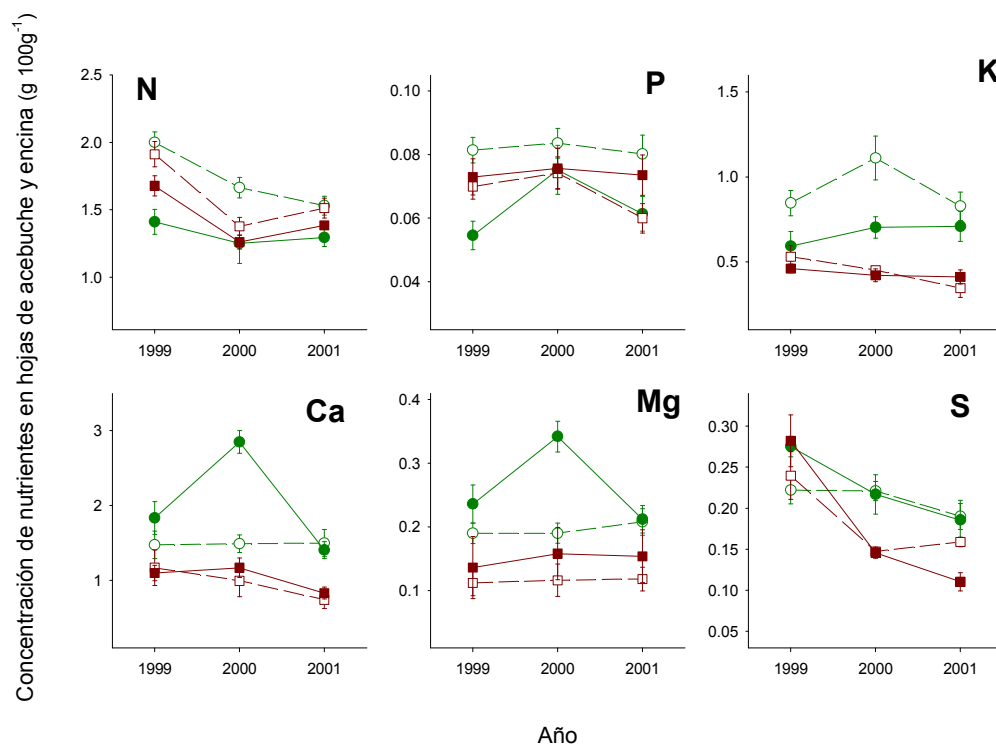
En la encina, como en el caso de N, P y K, las concentraciones de Ca fueron del mismo orden en las plantas afectadas y no afectadas. En el caso del Mg, resultaron ligeramente más altas en las hojas de las plantas afectadas por el vertido. En esta especie, las diferencias interanuales de ambos nutrientes no resultaron significativas, como tampoco lo fueron las registradas en las hojas de los acebuches no afectados por el vertido. Sólo se observaron diferencias interanuales significativas, para Ca y Mg, en el caso de los acebuches afectados, en los que se registró un notable aumento de ambos nutrientes en el segundo año de estudio (Fig. 7.6).

Desconocemos las razones por las cuales se produjeron estos aumentos de Ca y Mg en las hojas de los acebuches afectados, en el segundo año de estudio, en el que se llegaron a alcanzar concentraciones puntuales de Ca y Mg de 3,3 % y 0,41 %, respectivamente. Para otras especies muestreadas sobre suelos calcáreos (caso de la grama y álamo blanco) se barajó la posibilidad de que una ligera acidificación temporal del substrato, ocasionada por la oxidación parcial del lodo residual, pudiera haber incrementado la disponibilidad de Ca y, concretamente su absorción por la planta. También en este caso se ha observado cierta acidificación del substrato, ya de por sí ácido (Tabla 7.1), que pudiera haber potenciado en algún momento la disponibilidad de Ca y Mg. Estos aumentos de concentración de ambos nutrientes coinciden con el observado para el P (Fig. 7.6).

Tampoco se puede descartar cierto efecto positivo de las enmiendas calizas aplicadas (algunas, incluyendo, además, un porcentaje de P próximo al 0,5 %, como es el caso de la espuma de azucarera), ya que aunque su aplicación no pudiera efectuarse en zona cubierta por la copa, las raíces pueden absorber nutrientes más allá de esta área, según pudieron corroborar Fernández *et al.* (1991) para el olivo.

De cualquier forma, se trata de una circunstancia ventajosa para la planta, teniendo en cuenta el papel "protector" que posee el Ca ante el estrés que puede producirse por la presencia de metales pesados en el medio.





**Figura 7.6.** Evolución de los nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S en hojas de **acebuche** (no afectados ○ y afectados ● por el vertido) y de **encina** (no afectadas □ y afectadas ■ por el vertido). Valores medios  $\pm$  error estándar.

Por otra parte las concentraciones de S de las hojas de los árboles afectados por el vertido (tanto encinas como acebuches) descendieron paulatinamente (con diferencias significativas en las hojas de acebuche afectadas y en las de encina, afectadas y no afectadas), y en los dos últimos años fueron similares, a pesar de la riqueza en S de los residuos, a las registradas en los árboles no afectados (Fig. 7.6). En el caso de la encina resultaron incluso más bajas en los árboles afectados en el año 2001.

Sólo en el primer año de estudio resultaron algo mayores las concentraciones de S de las hojas en la zona afectada, debido, posiblemente, más que a una mayor disponibilidad de S en el lodo residual, a la incidencia de la contaminación atmosférica, derivada de las labores de limpieza, que pudo haber

sido ligeramente más acusada en el área afectada, donde se llegaron a registrar concentraciones próximas a 0,8 % en las hojas de encina el mismo año del vertido, una vez comenzadas las labores de limpieza (datos no presentados).

Respecto al primer año de estudio, las variaciones interanuales de S en la zona afectada resultaron significativas en los dos últimos años para la encina y sólo en el último año para el acebuche. En el caso de la encina también resultaron significativos, respecto al primer año, los descensos de concentración registrados en los dos últimos años en la zona no afectada (Fig. 7.6).

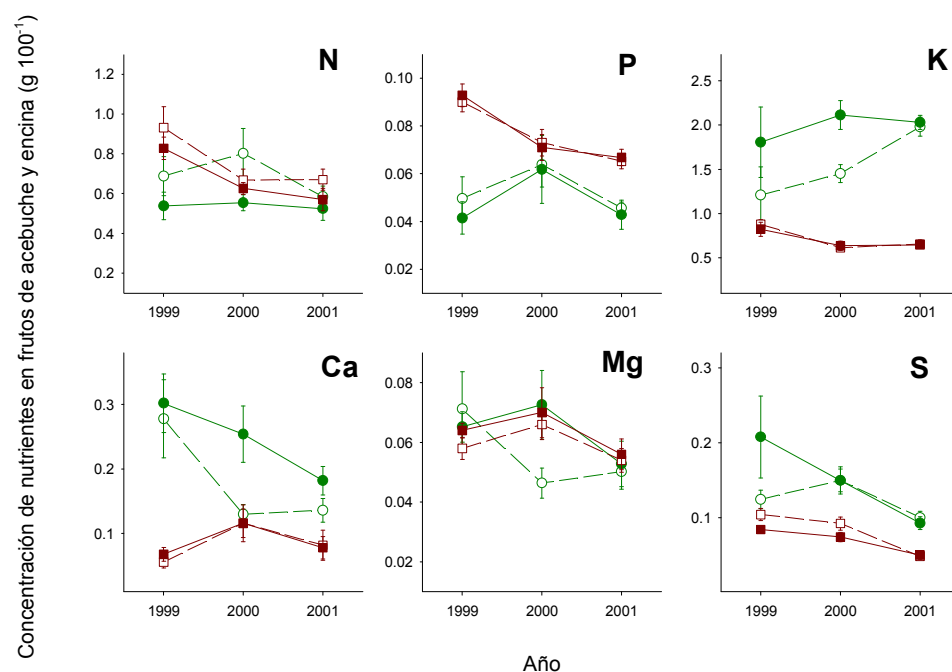
En general, las concentraciones de macronutrientes fueron más altas en las hojas de acebuche que en la encina, excepto en el caso de N y P de los árboles afectados, cuyas concentraciones fueron comparativamente bajas ante la presencia del lodo residual. En general, el acebuche estuvo más influenciado por las condiciones del medio que la encina, cuyas concentraciones de macronutrientes siempre oscilaron dentro de intervalos pequeños.

#### 7.7.1.2. Frutos

Las concentraciones de N de la pulpa de las acebuchinas siguieron un patrón evolutivo similar al observado en las hojas. En la zona afectada se mantuvieron constantes a lo largo de los tres años, alrededor de 0,55 %, y siempre por debajo de las correspondientes concentraciones registradas en los frutos de los árboles no afectados, especialmente en los dos primeros años de estudio (Fig. 7.7).

También se observó un patrón evolutivo razonablemente similar al de las hojas en el caso de las concentraciones de N de las semillas de la encina: más altas en el primer año que en los dos últimos (siendo las diferencias significativas en el caso de los árboles no afectados y afectados por el vertido, Fig. 7.7) y siempre ligeramente más bajas en los árboles afectados, aunque dentro de intervalos más pequeños que los correspondientes al acebuche.

Las concentraciones de P de la pulpa de las acebuchinas y semillas de bellotas fueron prácticamente iguales en los árboles afectados por el vertido y los no afectados, más altas, en general, en las semillas de las bellotas, en las que presentaron un patrón evolutivo similar al del N: mayores concentraciones durante el primer año, siendo significativas las diferencias respecto a los dos últimos, tanto para los árboles afectados como no afectados.



**Figura 7.7.** Evolución de los nutrientes N, P, K, Ca, Mg, S en frutos de **acebuche** (no afectados ○ y afectados ● por el vertido) y de **encina** (no afectadas □ y afectadas ■ por el vertido). Valores medios  $\pm$  error estándar.

El comportamiento del K en las bellotas también fue muy similar al observado en las hojas, alcanzándose concentraciones muy similares en árboles afectados y no afectados, y del mismo orden a lo largo de todo el período de estudio. Por el contrario, las concentraciones de K en la pulpa de las acebuchinas mostraron un comportamiento inverso al registrado en las hojas, siendo mayor en este caso en los árboles afectados, durante los dos primeros años. En el último año se igualaron en las dos zonas, alcanzándose en ambos casos un nivel próximo al 2 %.

Las concentraciones de Ca y Mg de los frutos de las dos especies presentaron un patrón evolutivo bastante similar al registrado en las hojas, especialmente en el caso de la encina. En la pulpa de las acebuchinas, afectadas y no afectadas por el vertido, el nivel de Ca descendió a lo largo de los tres años de estudio, exceptuando una ligera recuperación registrada en el último año en la

zona afectada. En esta zona, el descenso de Ca registrado en el año 2000 generó una diferencia significativa respecto al primer año (Fig. 7.7).

Las concentraciones de Ca, y de Mg de la pulpa de las acebuchinas en el año 2000 resultaron, en general, más altas en los árboles afectados por el vertido que en los no afectados, en consonancia con los resultados obtenidos para las hojas (Fig. 7.6). Por el contrario, en el caso de la encina las concentraciones de ambos elementos resultaron muy similares en ambas zonas (Fig. 7.7).

En general, las concentraciones de S tendieron a disminuir (en las dos especies) a lo largo del período de estudio, salvo una pequeña recuperación, no significativa, registrada en las acebuchinas no afectadas en el año 2000. Las disminuciones de concentración más acusadas correspondieron a las acebuchinas de los árboles afectados, aunque la diferencia sólo resultó significativa para los años 2000 y 2001.

### **7.7.2. Variaciones en la concentración de elementos traza**

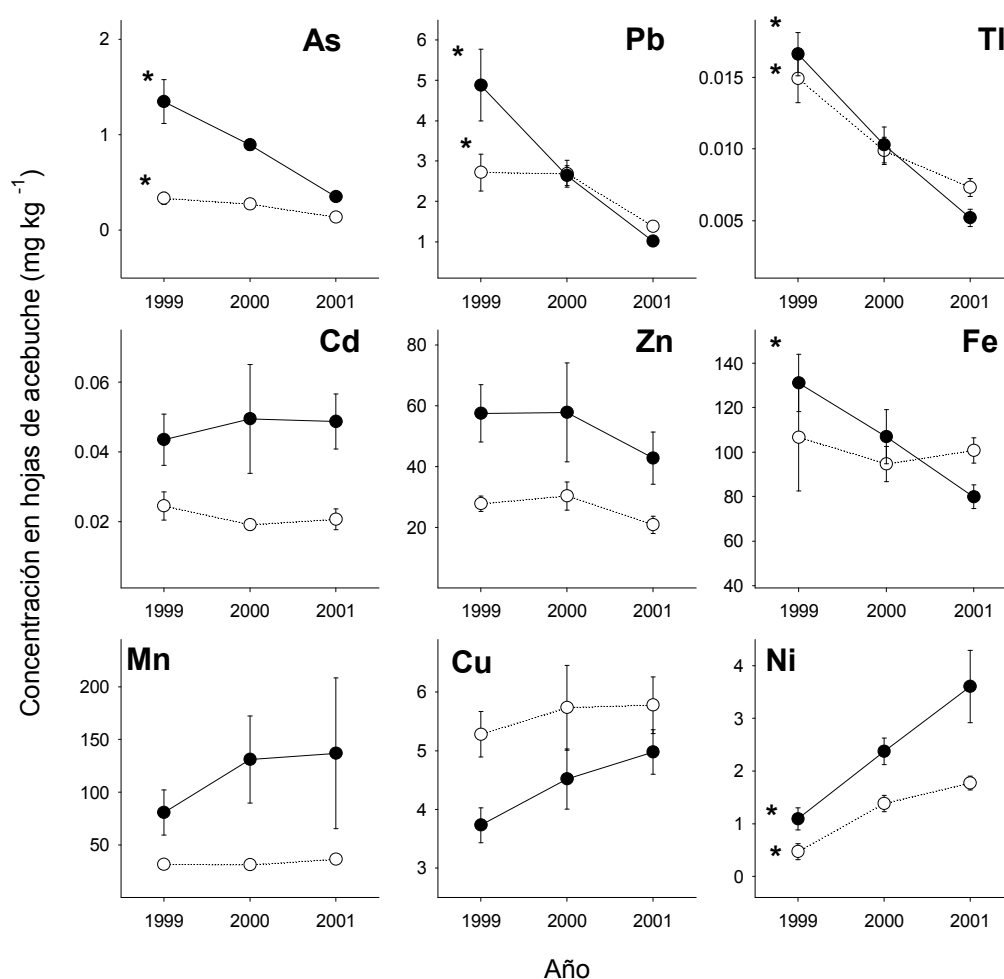
Al igual que se ha hecho en los apartados anteriores, se muestran por separado los resultados correspondientes a las hojas, tallos y frutos, para facilitar la presentación y discusión de los mismos.

#### **7.7.2.1. Hojas**

##### ***a) Acebuche***

En las hojas de acebuche, el vertido pudo conducir a una mayor absorción inicial de elementos traza en la zona afectada, especialmente, de As y Pb (elementos muy representativos en las arsenopiritas). Posteriormente estos elementos experimentaron un acusado descenso, hasta alcanzar en el último año concentraciones similares a las registradas en los árboles no afectados. Talio y Fe también mostraron un claro patrón descendente, aunque en este caso las diferencias iniciales entre plantas afectadas y no afectadas fueron menores. Para estos cuatro elementos (As, Pb, Tl y Fe) se obtuvieron concentraciones significativamente más bajas en el tiempo, tanto en las hojas de la zona de referencia como en la afectada por el vertido (excepto en las concentraciones de Fe de la zona no afectada). En el caso del As, y Pb de la zona no afectada los

descensos significativos se produjeron del segundo al tercer año de estudio, mientras que en el caso de Pb y Tl de la zona afectada, hubo significación en los descensos de concentración del primer al segundo año de estudio y del segundo al tercer año de estudio.



**Figura 7.8.** Evolución de la concentración de elementos traza en hojas de **acebuche** sobre suelo de referencia (○) y sobre suelo afectado por el vertido (●). Valores medios  $\pm$  error estándar (n = 5). Las diferencias significativas entre años, para cada elemento y suelo, se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

En general, las concentraciones de As, Pb, Tl y Fe alcanzadas en las hojas de los acebuches afectados por el vertido no resultaron fitotóxicas, ni siquiera los máximos puntuales registrados ( $1,9 \text{ mg kg}^{-1}$  para el As,  $8 \text{ mg kg}^{-1}$  para el Pb,  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  de Tl y  $160 \text{ mg kg}^{-1}$  de Fe).

Por el contrario, Cd, Zn, Mn, Cu y Ni tuvieron un comportamiento opuesto, manteniéndose sus concentraciones durante el período de estudio (Cd y Zn en los dos primeros años), o incluso presentando cierta tendencia ascendente (Mn, Cu y especialmente Ni, para el que se registraron diferencias significativas interanuales tanto para plantas afectadas como no afectadas, Fig. 7.8).

Las concentraciones de Cd siempre se mantuvieron dentro de un intervalo de  $0,04\text{-}0,05 \text{ mg kg}^{-1}$  en la zona afectada, con un valor máximo de  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  en el año 2000, todavía muy lejos de los  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  a partir de los cuales pueden surgir problemas de fitotoxicidad (Kabata-Pendias y Pendias, 1992). Las concentraciones de Zn también se mantuvieron constantes a lo largo del estudio, aunque con un ligero descenso en el último año (no significativo) y siempre muy por debajo de los  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  que pueden resultar fitotóxicas para las especies más sensibles (Kabata-Pendias y Pendias, 1992; Fig. 7.8).

La capacidad de absorción del Mn del acebuche es mucho menor que la de la encina (en un orden de magnitud), estando en este caso influenciada por la presencia del vertido, al resultar claramente superiores las concentraciones registradas en las hojas de los árboles afectados (Fig. 7.8). Como en el caso de la encina, el elemento mostró cierta tendencia ascendente, fruto posiblemente del antagonismo ejercido por las elevadas concentraciones iniciales registradas para otros elementos traza (Pb, Fe, Zn).

La absorción de Cu también pudo experimentar, en la zona afectada, la acción antagónica de otros elementos presentes en concentraciones elevadas (por ejemplo, Fe y Zn; Kabata-Pendias y Pendias, 1992), teniendo en cuenta su comportamiento ascendente en esta zona y constante en la zona no afectada por el vertido (Fig. 7.8). Este comportamiento contrasta con el observado para la encina, claramente descendente, circunstancia que pudo estar relacionada, al menos en parte, con lo propenso de sus hojas a la contaminación atmosférica (que fue disminuyendo en el tiempo).

En general, las concentraciones de Cu de las hojas de acebuche fueron algo más bajas que las hojas de la encina, estando muy por debajo del intervalo

considerado fitotóxico para plantas superiores (20-100 mg kg<sup>-1</sup>; Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

A pesar de que la concentración disponible de Cu en el suelo fue de 4 a 6 veces mayor en los suelos afectados, las concentraciones en hojas resultaron más bajas en esta zona que en la de referencia, (Fig. 7.8). También se han obtenido concentraciones de Cu comparativamente bajas, en suelos contaminados por este elemento, en el caso de otras especies arbóreas: como pino (Rautio *et al.*, 2003), abedul (Kozlov *et al.*, 1995), y para el álamo blanco (capítulo 6 de la presente memoria).

Las concentraciones de elementos traza registradas en las hojas de acebuche pudieron estar menos afectadas por la contaminación atmosférica que las de la encina. Además de que su descontaminación por lavado pudo ser más efectiva, sus características morfológicas las hacen menos propensas a la deposición atmosférica.

#### *b) Encina*

Las concentraciones de elementos traza en las hojas de encina fueron, en general, muy similares a lo largo de los tres años de estudio, en los árboles afectados y no afectados por el vertido (Fig. 7.9). Debido a la contaminación atmosférica (que también debió afectar a las plantas "control", dada la proximidad de ambas zonas), las concentraciones de elementos traza fueron mayores, salvo excepciones, durante el primer año, inmerso todavía en las labores de limpieza.

Los descensos más acusados se registraron en el año 2000, respecto a 1999, para los elementos As, Pb, Tl y Fe, siendo significativas las diferencias tanto para los árboles afectados como no afectados (Fig. 7.9). Posteriormente (año 2001), el descenso fue mucho más moderado, aunque se obtuvieron diferencias significativas para As y Pb (control y afectado) y Tl de la zona control. Las concentraciones tan altas de Fe registradas durante el primer año, por encima de 1000 mg kg<sup>-1</sup>, son indicadoras de una importante contaminación atmosférica. El Fe, junto con el Al, son elementos muy utilizados para detectar este tipo de contaminación en plantas (Cherney y Robinson, 1983; Reimann *et al.*, 2001). Las concentraciones de Al también fueron más altas durante el primer año alrededor de 460 mg kg<sup>-1</sup>, en el año posterior 315 mg kg<sup>-1</sup>, y en el último año 276 mg kg<sup>-1</sup>.

Por el contrario, las concentraciones de Mn y Zn no siguieron este patrón evolutivo descendente, salvo el Zn en las hojas de las encinas no afectadas por el vertido, cuyas concentraciones experimentaron un brusco descenso en el tercer año de estudio, siendo significativa la diferencia respecto a las anteriores. Esta circunstancia parece indicar que las concentraciones alcanzadas por ambos elementos debieron ser consecuencia, fundamentalmente, de la absorción radical y transporte de elementos por la planta.

Las especies del género *Quercus* poseen una elevada capacidad para acumular Mn en las hojas (Bargagli, 1998). Aunque no sean frecuentes concentraciones superiores a los 1000 mg kg<sup>-1</sup> (límite de toxicidad para plantas superiores; Kabata-Pendias y Pendias, 1992), existen ejemplos en la literatura (1830 mg kg<sup>-1</sup>, Soldevilla *et al.*, 1992).

Se han llegado a detectar concentraciones medias próximas a los 1000 mg kg<sup>-1</sup> de Mn en la zona no afectada (con un máximo de 2530 mg kg<sup>-1</sup>). La facilidad con que las plantas absorben y translocan este elemento, en especial la encina, se ve potenciada por un pH ácido en el suelo (Kabata-Pendias y Pendias, 1992), como los que caracterizan a la zona de estudio (Tabla 7.1). Ello explicaría las elevadas concentraciones registradas en estos árboles, adultos, para los que, posiblemente, no resultaron fitotóxicas (de hecho Chaney (1989) amplía el intervalo de fitotoxicidad hasta 2000 mg kg<sup>-1</sup>).

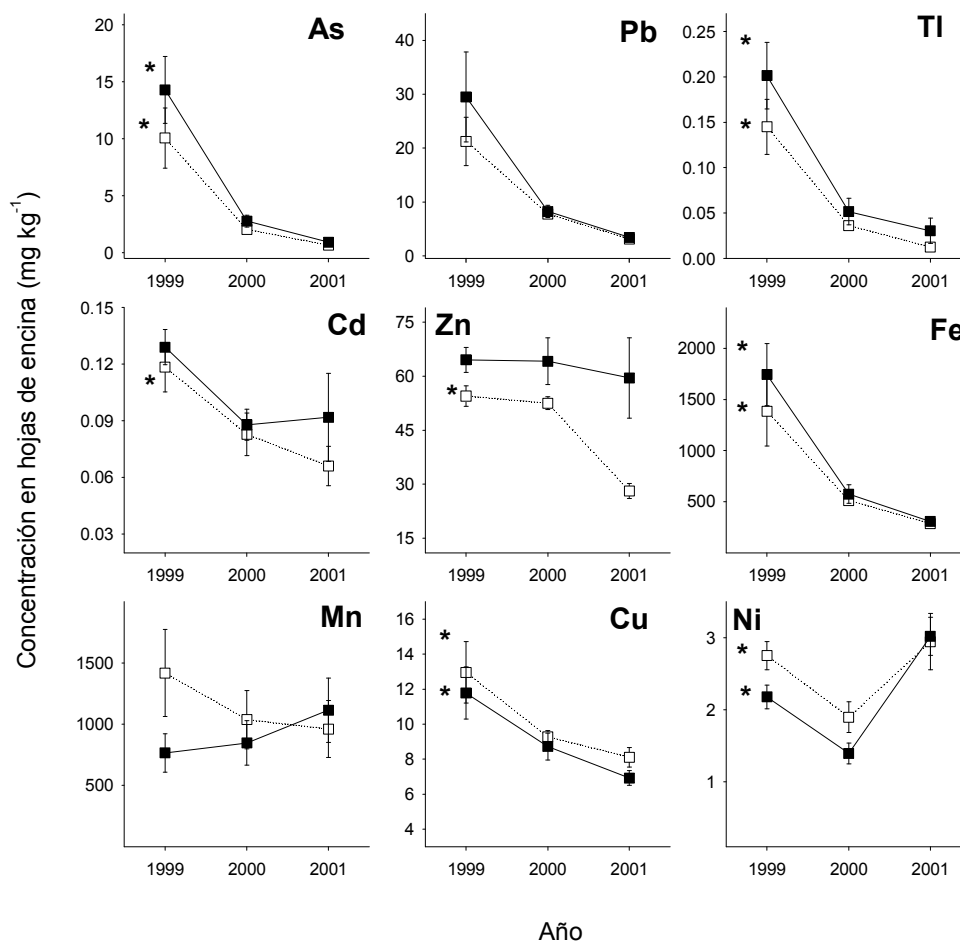
La presencia de lodo no afectó a la absorción de Mn, mayor en la zona no afectada durante los dos primeros años. En todo caso, las elevadas concentraciones de Fe, Zn, Cd o Pb presentes en el vertido pudieron ejercer cierto efecto antagónico sobre su absorción (Kabata-Pendias y Pendias, 1992), efecto que pudo ser ligeramente más acusado en los primeros años, según se desprende de su tendencia ascendente en esta zona (Fig. 7.9).

Las concentraciones de Zn y Cd registradas en las hojas de los árboles de la zona afectada fueron, en general, muy moderadas, aunque las de Zn fueron claramente superiores a las registradas en la zona no afectada. Estas concentraciones tan bajas de Cd y Zn contrastan con los valores tan elevados que se obtuvieron para el álamo blanco en la zona afectada por el vertido (apartado 6.5). Las concentraciones de Cu y Ni, resultaron en general, ligeramente más altas en la zona no afectada (Fig. 7.9).

En el caso del As, Pb, Tl y Fe se alcanzaron, durante el primer año en las encinas de la zona afectada, máximos puntuales de concentración considerados



fitotóxicos para plantas superiores ( $24 \text{ mg kg}^{-1}$  para As,  $61 \text{ mg kg}^{-1}$  para Pb, y  $2760 \text{ mg kg}^{-1}$  para Fe; en el caso del Tl se alcanzaron valores superiores a  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ , considerado este valor límite superior de concentraciones normales de este elemento en plantas). Sin embargo, sus concentraciones descendieron luego bruscamente, según se ha indicado anteriormente, hasta niveles prácticamente iguales a los registrados en la zona no afectada, e inferiores a los límites de fitotoxicidad establecidos para los mismos (Fig. 7.9).



**Figura 7.9.** Evolución de la concentración de elementos traza en hojas de **encina** sobre suelo de referencia (□) y sobre suelo afectado por el vertido (■). Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ). Las diferencias significativas entre años, para cada elemento y suelo, se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

Las concentraciones de Ni fueron muy similares en las hojas de ambas especies, aunque con diferentes comportamientos, ya que en el caso del acebuche las concentraciones fueron mayores en la zona afectada y mostraron (en las dos especies) un patrón evolutivo ascendente, con diferencias significativas entre el primer y último año (Figs. 7.8 y 7.9). Dado su bajo contenido en el vertido, las concentraciones de Ni en hoja siempre estuvieron por debajo del intervalo de fitotoxicidad para este elemento (10-100 mg kg<sup>-1</sup>, Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

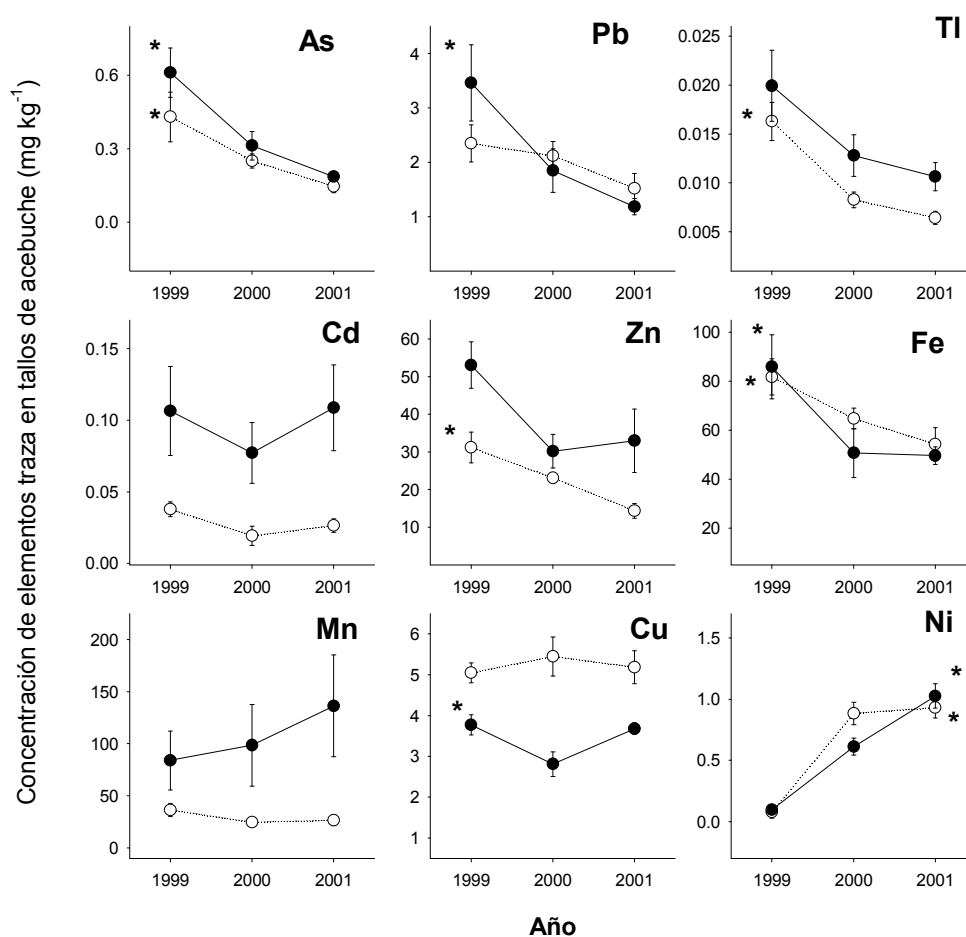
#### 7.7.2.2. Tallos

La evolución temporal seguida por los elementos estudiados en tallos resultó muy similar a la observada en las hojas de ambas especies; las concentraciones de As, Pb, Tl y Fe presentaron un claro patrón descendente, con diferencias significativas entre el primer y el último año en la mayoría de los casos (Figs. 7.10 y 7.11). Los elementos As, Pb (ambas especies) y Fe (encina) pudieron verse afectados en mayor medida por la contaminación atmosférica, puesto que sus concentraciones resultaron mayores en la zona afectada durante el primer año, igualándose posteriormente (año 2000 y 2001) en las dos zonas. Lógicamente, también pudo producirse una absorción radical y transporte de As y Pb, en la zona afectada, algo mayores durante el primer año, circunstancia que potenciaría el efecto de la contaminación atmosférica en esta zona.

En el caso del Tl sí hubo un efecto claro del vertido a lo largo de todo el estudio, puesto que las concentraciones siempre fueron mayores, para las dos especies, en la zona afectada (Figs. 7.10 y 7.11). Los valores más altos se registraron, de nuevo, durante el primer año, en las dos zonas de estudio; esto parece probar que independientemente de una absorción radical algo mayor en la zona afectada, durante el primer año la contaminación atmosférica pudo incidir en mayor medida sobre las concentraciones en tallos de este elemento.

Cadmio y Zn tuvieron un comportamiento similar al del Tl, en cuanto a que las concentraciones fueron, en general, mayores en los tallos de la zona afectada, para las dos especies (Figs. 7.10 y 7.11). No obstante, en el caso del Cd, las concentraciones no descendieron de forma gradual con el tiempo, hasta el extremo de que los máximos valores registrados (0,20 mg kg<sup>-1</sup>, acebuche y 0,38 mg kg<sup>-1</sup>

encina) correspondieron al año 2001. Ello indica la relevancia de este metal, en cuanto a biodisponibilidad, dentro de la contaminación residual de la zona.



**Figura 7.10.** Evolución de la concentración de elementos traza en tallos de **acebuche** sobre suelo de referencia (○) y sobre suelo afectado por el vertido (●). Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ). Las diferencias significativas entre años, para cada elemento y suelo, se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

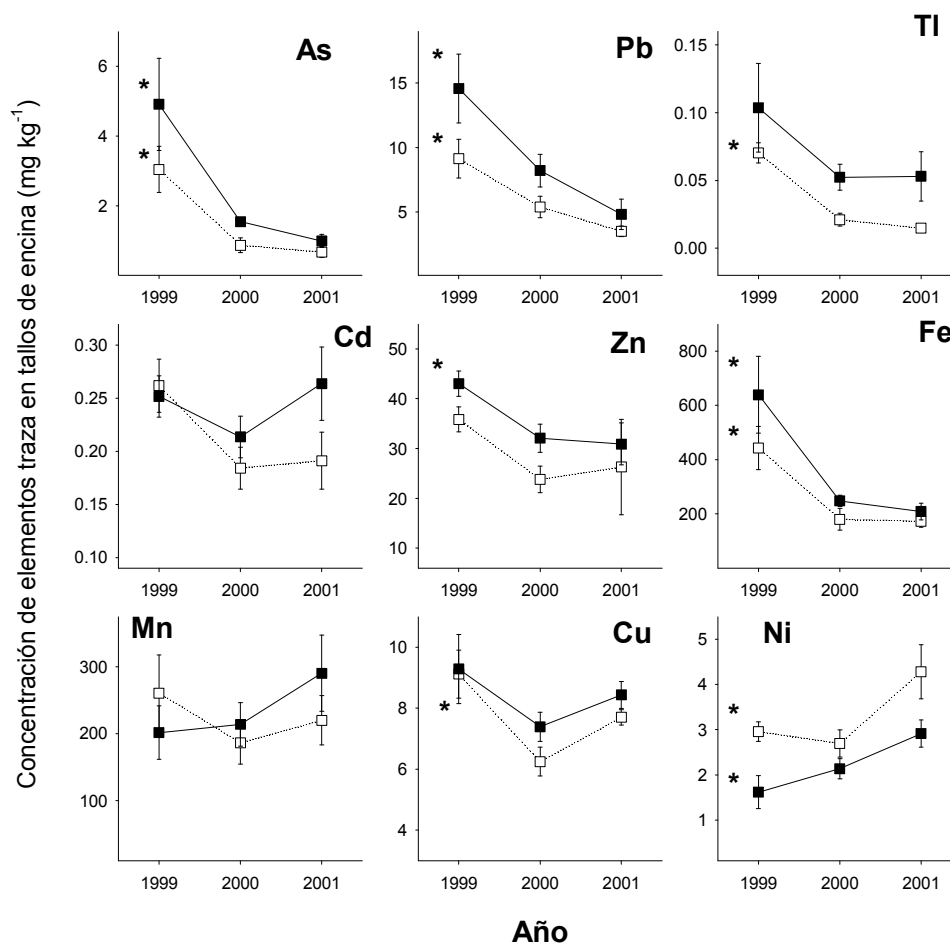
El Cd es un elemento que las plantas absorben con eficiencia (debido a su movilidad en los suelos) y transportan activamente (Das *et al.*, 1997). Los acebuches de la zona afectada parece que realizaron una absorción de Cd más

efectiva que las encinas de esta misma zona, ya que las diferencias de concentración, respecto a los tallos de la zona de referencia, fueron mayores (Figs. 7.10 y 7.11). Los tallos de las encinas estuvieron más afectadas por la contaminación atmosférica, especialmente durante el primer año, en el que las concentraciones de Cd fueron iguales en la zona afectada y no afectada (Fig. 7.11).

La contaminación atmosférica también pudo afectar en cierta medida a las concentraciones de Zn (en general, más altas durante el primer año); no obstante la absorción de este elemento por parte de las dos especies parece que fue ligeramente superior en la zona afectada (Figs. 7.10 y 7.11).

El Mn tuvo un comportamiento muy similar al observado en las hojas, destacando su tendencia ascendente en la zona afectada, consecuencia, posiblemente, de la acción antagónica ejercida por otros elementos, más acusada durante el primer año de estudio, según se discutió en apartados anteriores. Las concentraciones de Mn fueron más altas en los tallos de la encina que en las del acebuche, aunque mucho más bajas que las registradas en las hojas de aquella. Las concentraciones de Cu de los tallos resultaron muy moderadas en ambas especies (algo mayores en la encina), a pesar de su riqueza en el lodo residual de la zona afectada. En el acebuche, fueron incluso mayores en la zona de referencia, lo que puede significar cierta regulación de las plantas sobre su absorción, al margen de que en este caso pueda haber existido cierta acción antagónica por parte de otros elementos traza presentes en el suelo.

Las concentraciones de Ni de los tallos del acebuche fueron prácticamente iguales en las dos zonas, afectadas y no afectadas, y más baja en la zona afectada en el caso de la encina (Fig. 7.11), circunstancia que refleja la escasa incidencia del lodo residual sobre la absorción de este elemento, sobre el que también pudieron ejercer cierta acción antagónica otros elementos presentes en el vertido (al igual que para la hoja).



**Figura 7.11.** Evolución de la concentración de elementos traza en tallos de **encina** sobre suelo de referencia (□) y sobre suelo afectado por el vertido (■). Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ). Las diferencias significativas entre años, para cada elemento y suelo, se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

### 7.7.2.3. Frutos

#### *a) Acebuchinas*

Las concentraciones de As, Pb, Tl, Cd y Fe en la pulpa de las acebuchinas fueron especialmente altas durante el primer año, debido en gran parte a la

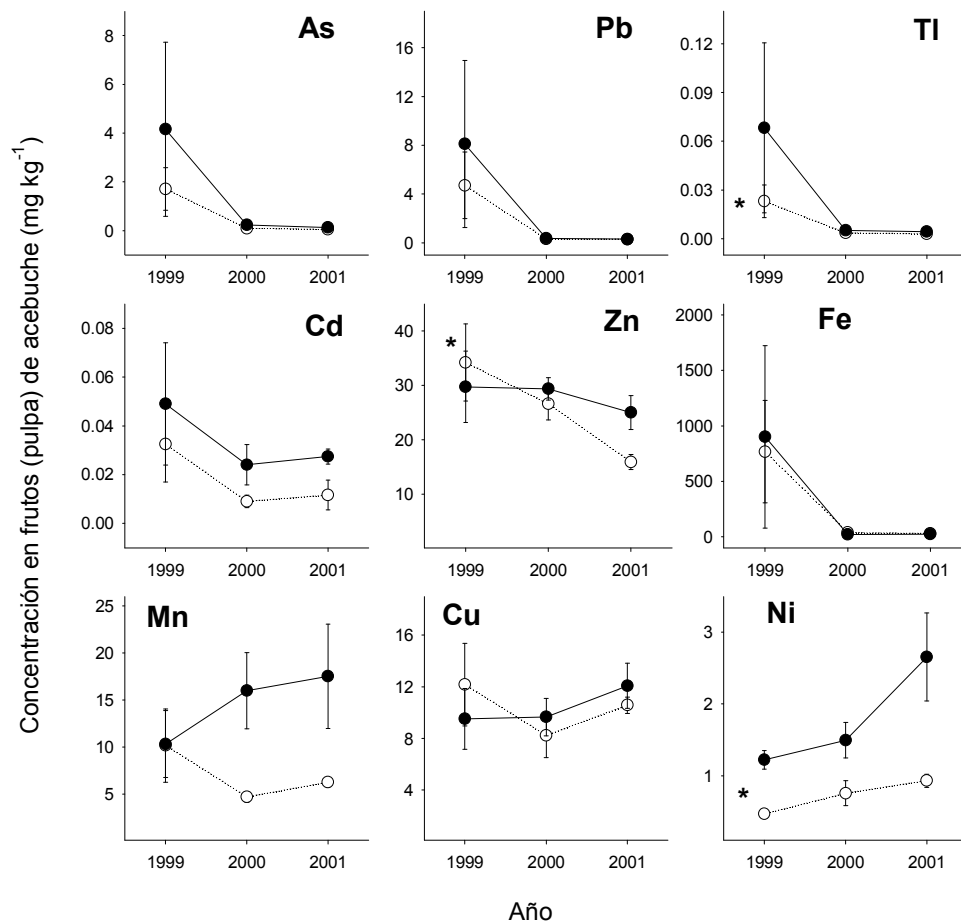
contaminación atmosférica referida, que también afectó a las plantas de la zona de referencia, aunque cabe suponer que la absorción radical debió de ser más acusada en la zona afectada por el vertido, donde las concentraciones de estos elementos fueron altas. En el caso del Fe, la diferencia entre ambas zonas fue menor, debido a que su presencia en el vertido fue más baja, en términos relativos, que la de As, Pb o Tl (Fig. 7.12).

La contaminación con polvo atmosférico también fue reflejada por los valores tan altos obtenidos para el Al, más de  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$ , tanto en las acebuchinas afectadas como en las no afectadas por el vertido; el Al es un elemento litofílico, de forma que todas aquellas concentraciones en la planta superiores a  $150 \text{ mg kg}^{-1}$ , pueden considerarse afectadas por la contaminación con polvo (Bargagli, 1998).

Las concentraciones de Zn y Cu se mantuvieron razonablemente constantes en la zona afectada, mientras que Mn y Ni presentaron un comportamiento con tendencia al aumento.

Los elementos As, Pb, Tl y Fe evolucionaron de forma muy parecida a como lo hicieron en las hojas y tallos (Figs. 7.6 y 7.10), esto es, experimentando un brusco descenso del primer al segundo año y manteniéndose luego en niveles muy bajos y prácticamente iguales en las dos zonas.

La disminución inicial de las concentraciones de estos elementos fue, conjuntamente, mucho mayor que la experimentada en la hoja. Indicar no obstante, que las concentraciones medias tan altas obtenidas en 1999 en la pulpa de los frutos, tanto afectados como no afectados por el vertido, se debieron principalmente a dos muestras, una de referencia y otra afectada; ambas estaban más secas que el resto (humedad de 14,3% y 11,5 % frente a valores próximos a 30% en el resto de muestras, y posiblemente más contaminadas por polvo). En ellas, las concentraciones de As fueron de  $18,4 \text{ mg kg}^{-1}$  en la muestra afectada y  $4,7 \text{ mg kg}^{-1}$  en la no afectada, de Pb  $35,4 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $15,6 \text{ mg kg}^{-1}$  en la pulpa afectada y no afectada, y por último de Fe (otro elemento indicador de la contaminación por suelo) se obtuvieron concentraciones de  $4190 \text{ mg kg}^{-1}$  en la afectada y  $2510 \text{ mg kg}^{-1}$  en la no afectada.



**Figura 7.12.** Evolución de la concentración de elementos traza en la pulpa de los frutos de **acebuche** sobre suelo de referencia (○) y sobre suelo afectado por el vertido (●). Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ). Las diferencias significativas entre años, para cada elemento y suelo, se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

El Cd también pudo estar afectado por la contaminación inicial con polvo atmosférico (su concentración disminuyó en las dos zonas), aunque parece evidente que las plantas lo absorbieron en mayor cantidad en la zona afectada, donde las concentraciones resultaron casi dos veces mayores que en la zona de referencia, aunque siempre dentro de límites muy moderados.

Por el contrario, el Zn, otro de los elementos más representativos del lodo todavía presente en los suelos, y que la planta puede tomar con facilidad, sólo resultó claramente superior en los frutos procedentes del área afectada durante el último año, aunque en este caso las variaciones temporales estuvieron ocasionadas por la disminución progresiva del Zn en la pulpa de las acebuchinas no afectadas, siendo esta disminución de concentración significativa entre el primer y último año de estudio. Ya se ha indicado que en la zona afectada el comportamiento del Zn fue constante en el tiempo (Fig. 7.12).

Las concentraciones de Mn y Ni en la pulpa de las acebuchinas afectadas mostraron una clara tendencia al ascenso, situación ya detectada en el caso de las hojas, lo que parece corroborar que, inicialmente, su absorción por la planta pudo experimentar cierto efecto antagónico derivado de la presencia abundante en el suelo de otros elementos traza. En ambos casos, a pesar de que no fueron elementos representativos en el vertido, la presencia de lodo residual parece que potenció su absorción por la planta (Fig. 7.12).

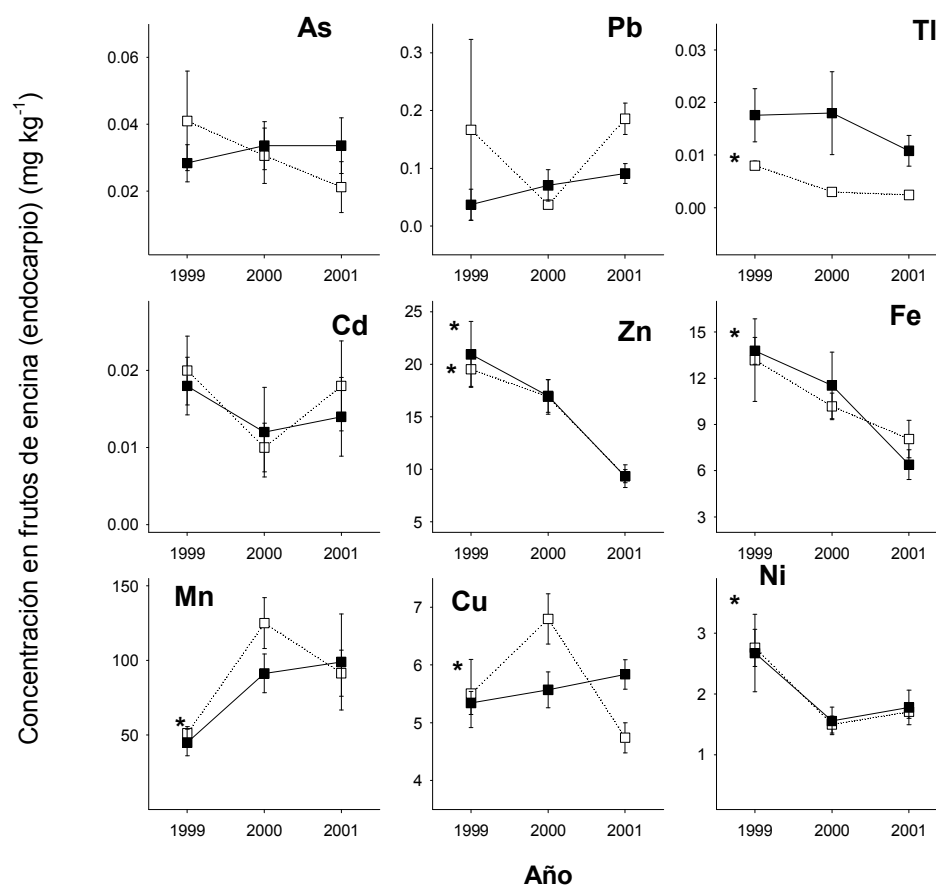
Por el contrario, el Cu, elemento muy abundante en el vertido, alcanzó concentraciones similares en la pulpa de las acebuchinas afectadas y no afectadas, situación ya referida en otros casos, que parecen indicar que también puede haberse producido cierto efecto antagónico sobre su absorción, en la zona afectada

#### *b) Bellota*

Las concentraciones de elementos traza obtenidas en la semilla de la bellota fueron bajas, en general, en la zona afectada, del mismo orden que las obtenidas en la zona de referencia (Fig. 7.13). Esto se debe a que es una fracción libre de deposición aérea; además las plantas superiores, en general, tienen mecanismos que controlan la llegada de elementos tóxicos a las semillas (especialmente al embrión, Ernst *et al.*, 1992).

El comportamiento observado para esta fracción fue distinto al resto de fracciones estudiadas hasta ahora (única fracción libre de la deposición aérea). Así, las concentraciones de As de las semillas afectadas se mantuvieron prácticamente en los tres años, mientras que las de Pb tendieron a aumentar ligeramente (Fig. 7.13).





**Figura 7.13.** Evolución de la concentración de elementos traza en la semilla de los frutos de **encina** sobre suelo de referencia (□) y sobre suelo afectado por el vertido (■). Valores medios  $\pm$  error estándar ( $n = 5$ ). Las diferencias significativas entre años, para cada elemento y suelo, se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

Solamente en el caso del Ti se ha observado un comportamiento definido, en el sentido de que las concentraciones de las semillas procedentes de la zona afectada, resultaron más altas que las de la zona no afectada, a lo largo de todo el período de estudio (Fig. 7.13).

Se trata de un aspecto interesante, ya que en la generalidad de los casos estudiados (incluida esta especie), la absorción del Ti ha sido muy moderada, a pesar de su contenido en el vertido, extremadamente alto (hasta 60 mg kg<sup>-1</sup>, Cabrera *et al.*, 1999). Esta baja absorción vegetal, generalizada en toda la zona

afectada, ha sido atribuida a la escasa movilidad del TI en el lodo y suelos afectados.

Sin embargo, en el caso de la encina (no así en el caso del acebuche) parece que, una vez absorbido (aun en pequeñas cantidades) puede ser transportado con relativa facilidad hasta los órganos reproductores, aspecto que sería interesante seguir constatando en esta zona. De cualquier forma, siempre se trata de niveles prácticamente inocuos (menos de  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ ), muy por debajo del máximo valor permitido para la red trófica ( $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ; Makridis y Amberger, 1996).

Cd, Zn y Fe presentaron prácticamente la misma evolución temporal en las semillas no afectadas y afectadas por el vertido; mientras que para el Cd las concentraciones tienden a mantenerse, las de Zn y Fe tendieron a descender (con diferencias significativas, Fig. 7.13).

Las concentraciones de Mn y Cu de las semillas afectadas tendieron a aumentar (en el caso del Mn, es la misma tendencia que en hojas y tallos), mientras que en las semillas no afectadas ambas concentraciones aumentaron en el año 2000, hasta alcanzar los máximos valores obtenidos en las semillas ( $167 \text{ mg kg}^{-1}$  de Mn y  $8,1 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cu), para luego descender bruscamente.

## **7.8. POSIBLES IMPLICACIONES PARA LA RED TRÓFICA**

Tanto la encina como el acebuche son árboles representativos del bosque mediterráneo, organismos de larga vida, muy sensibles a las deposiciones atmosféricas de elementos traza y otros parámetros que causan estrés. En estos ambientes, los metales y otros contaminantes pueden alcanzar niveles críticos para la red trófica (Bargagli, 1998). Resulta necesario pues, examinar, aunque solo sea brevemente, las concentraciones de elementos traza de las fracciones más propensas a ser contaminadas con polvo atmosférico, en este caso sin su descontaminación previa, tal como serían consumidas por los animales.

En este apartado se estudian las hojas de encina y frutos de acebuche, fracciones que por las razones expuestas en apartados anteriores (rugosidad de las primeras y untuosidad de las segundas) pueden acumular polvo atmosférico con relativa facilidad. Teniendo en cuenta que a partir de un determinado nivel pueden llegar a ser tóxicas para diversos componentes de la red trófica, se indican a título orientativo aquellos valores que se consideran tóxicos para el ganado y que

recoge la bibliografía especializada. Estos valores deben ser contemplados, insistimos, sólo con carácter orientativo. Por ejemplo, se desconoce el nivel de tolerancia a los elementos traza, potencialmente tóxicos, de los animales silvestres de la zona que podrían alimentarse de las hojas de la encina o de los frutos de acebuche

#### **7.8.1. Hojas de la encina**

Arsénico y Pb son elementos que con facilidad son afectados por la contaminación atmosférica, aspecto importante teniendo en cuenta que pueden resultar tóxicos para los animales en concentraciones comparativamente bajas.

A pesar de la gran alarma social causada por la contaminación de As en el Guadiamar, en hojas de encina no se llegaron a detectar concentraciones que pudieran resultar tóxicas para el ganado (Tabla 7.17). El máximo valor puntual alcanzado,  $31 \text{ mg kg}^{-1}$ , en hojas de árboles afectados por el vertido, en el primer año de estudio, fue inferior al umbral de toxicidad de  $50 \text{ mg kg}^{-1}$ , establecido para el ganado, aunque desconocemos que influencia podrían tener concentraciones de esta magnitud sobre los componentes de la red trófica del Guadiamar.

Es interesante destacar que las concentraciones de As fueron descendiendo considerablemente con el tiempo, en ambas zonas (Tabla 7.17). En la zona afectada, desde valores puntuales próximos a los  $50 \text{ mg kg}^{-1}$ , registrados pocos meses después del accidente minero en las hojas de encina (año 1998), se alcanzó un intervalo de  $1,6\text{-}3,6 \text{ mg kg}^{-1}$ , muy por debajo del umbral de toxicidad establecido para este elemento, en el 2001.

Por el contrario, en el caso del Pb sí se alcanzaron concentraciones problemáticas para la red trófica. Durante el primer año se llegó a superar el umbral de toxicidad de  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  en ambas zonas, con una concentración puntual de  $93 \text{ mg kg}^{-1}$  en la zona afectada, tres veces más alta que dicho umbral. Posteriormente, las concentraciones de Pb fueron disminuyendo, aunque todavía se llegó a registrar un nivel puntual próximo a los  $30 \text{ mg kg}^{-1}$ , en este caso en la zona no afectada (Tabla 7.17), en el 2000.

Las densas nubes de polvo que generó la limpieza de suelos contaminados, no sólo alcanzaron al área afectada, sino también a las zonas circundantes, aspecto puesto de manifiesto por Querol *et al.*, (1999). Esta circunstancia justificaría plenamente la prohibición del pastoreo/ramoneo en las proximidades de

la cuenca de la zona contaminada. En el último año de estudio (2001) las concentraciones detectadas siempre fueron inferiores a  $30 \text{ mg kg}^{-1}$ , aunque todavía razonablemente elevadas en la zona afectada. Concentraciones próximas a  $20 \text{ mg kg}^{-1}$  podrían ser perjudiciales para las especies más sensibles. No hay que olvidar que el Pb puede llegar a ser muy tóxico. Su exposición a altos niveles puede desembocar en una enfermedad, denominada plumbismo, que afecta al sistema nervioso central (Dupka y Miller, 1999; Farmer y Farmer, 2000; Palacios *et al.*, 2002; Wright y Welbourn, 2002).

**Tabla 7.17.** Concentraciones medias e intervalos correspondientes a los elementos As, Pb, Cd y Zn en hojas de encina sin lavar en zona R, suelo de referencia, no afectado y zona A, suelo afectado por el vertido (concentraciones expresadas en  $\text{mg kg}^{-1}$ ;  $n = 5$ ). Se indican valores umbrales de toxicidad para el ganado según Chaney (1989).

Elemento	Zona	Año	Media	Rango	Valor máximo tóxico para el ganado
As	R	1999	10,7	5,41 – 23,6	50
		2000	3,71	3,30 – 4,20	
		2001	1,72	1,33 – 1,96	
	A	1999	18,8	9,42 – 31,2	
		2000	5,49	4,40 – 7,10	
		2001	2,82	1,60 – 3,58	
Pb	R	1999	27,8	18,7 – 48,5	30
		2000	14,8	9,50 – 31,1	
		2001	5,03	3,80 – 7,60	
	A	1999	46,2	21,0 – 93,0	
		2000	12,4	9,60 – 15,0	
		2001	9,43	4,70 – 20,5	
Cd	R	1999	0,15	0,09 – 0,23	0,50
		2000	0,22	0,16 – 0,25	
		2001	0,10	0,05 – 0,17	
	A	1999	0,16	0,14 – 0,19	
		2000	0,27	0,21 – 0,37	
		2001	0,19	0,13 – 0,25	
Zn	R	1999	48,0	32,8 – 59,9	300 (ovejas)
		2000	47,3	39,9 – 55,6	
		2001	35,0	26,7 – 45,3	
	A	1999	69,8	56,8 – 76,6	500 (ganado)
		2000	56,1	26,2 – 87,2	
		2001	71,2	44,0 – 113	

Sería interesante determinar las concentraciones de este elemento a más largo plazo en el área que nos ocupa. En general, las concentraciones registradas durante el último año de estudio resultaron comparativamente altas, incluso en la zona no afectada. Por ejemplo, para zonas industriales y zonas de intenso tráfico, Monacci *et al.* (2000) registraron un valor máximo de 81 mg kg<sup>-1</sup> en *Quercus ilex*.

El Cd es otro elemento que puede resultar muy tóxico para animales y humanos (Dupka y Miller, 1999), con el agravante de que las plantas suelen tolerarlo en concentraciones altas, que resultan prohibitivas para otros componentes de la cadena trófica (Wagner, 1993).

Para este elemento se ha establecido un umbral de toxicidad de 0,5 mg kg<sup>-1</sup> (Tabla 7.17), aunque existen autores que consideran que debería ser algo más elevado (Beyer, 2000). En las hojas de encina no se llegó a alcanzar este umbral (sólo superado en la zona afectada durante 1998, con un máximo puntual de 0,85 mg kg<sup>-1</sup>), por lo que en el caso de esta especie, no parece resultar un elemento problemático (Tabla 7.17). En otras cadenas tróficas, no obstante, tiende hacia su magnificación (Scheifler *et al.*, 2002).

Tampoco el Zn llegó a alcanzar concentraciones que pudieran suponer algún peligro para la red trófica, a pesar de su abundancia en el vertido y lodo residual todavía presente en el suelo. En el caso del Zn, y del Cd, no se ha observado (como para As y Pb) una disminución de concentraciones en el tiempo, lo que parece indicar que, al margen de la influencia que pudiera haber tenido la contaminación atmosférica sobre sus niveles en hoja, la planta continúa absorbiéndolos de forma efectiva en ambas zonas, especialmente en la afectada.

Las concentraciones de Fe y Mn podrían resultar problemáticas para la red trófica ya que, en general, superan los correspondientes umbrales de toxicidad establecidos para el ganado. Aunque en el caso del Fe, la contaminación atmosférica tuvo una influencia notable sobre los niveles alcanzados, las elevadas concentraciones registradas durante el primer año también obedecieron a una mayor absorción radical, y transporte a las hojas, durante ese período. El análisis de la fracción lavada así lo confirma (Fig. 7.6); aunque incluso la fracción lavada pudo estar afectada todavía por cierto nivel de contaminación por polvo (son hojas muy difíciles de descontaminar), las elevadas concentraciones de Fe parecen indicar una mayor disponibilidad inicial del elemento.

En el caso del Mn, las concentraciones se mantuvieron muy altas durante los tres años, debido en este caso a la elevada capacidad de absorción que

presenta la encina. La contaminación con suelo debió influir comparativamente poco en el caso de este elemento. Pudo observarse que en la zona de referencia, las concentraciones resultaron, en general, mayores que en la zona afectada; en esta última, la presencia de otros elementos traza pudo ejercer cierto efecto antagónico sobre su absorción. La existencia de un pH ligeramente más ácido en esta zona (Tabla 7.1) podría haber potenciado en cierta medida su absorción (Kabata-Pendias y Pendias, 1992), circunstancia que sin embargo no se ha producido.

**Tabla 7.18.** Concentraciones medias e intervalos correspondientes a los elementos Fe, Mn, Cu y Ni en hojas de encina sin lavar en zona R, suelo de referencia, no afectado y zona A, suelo afectado por el vertido (concentraciones expresadas en mg kg<sup>-1</sup>; n = 5). Se indican valores umbrales de toxicidad para el ganado según Chaney (1989).

Elemento	Suelo	Año	Media	Rango	Valor máximo tóxico para el ganado
Fe	R	1999	1424	798 - 2760	500 (ovejas)
		2000	698	623 - 745	
		2001	459	330 - 715	
	A	1999	2018	1100 - 3160	1000 (ganado)
		2000	871	627 - 1140	
		2001	551	319 - 764	
Mn	R	1999	1377	754 - 2400	1000
		2000	1043	583 - 1900	
		2001	1094	602 - 1990	
	A	1999	830	451 - 1450	
		2000	900	495 - 1460	
		2001	1230	318 - 2000	
Cu	R	1999	16,6	11,6 - 25,3	25 (ovejas)
		2000	14,5	12,4 - 18,4	
		2001	11,1	9,20 - 16,4	
	A	1999	17,3	11,3 - 25,4	100 (ganado)
		2000	15,2	11,9 - 17,5	
		2001	10,8	8,60 - 11,9	
Ni	R	1999	2,69	1,15 - 3,69	50
		2000	2,63	1,70 - 3,63	
		2001	3,92	2,53 - 6,31	
	A	1999	2,00	1,19 - 3,28	
		2000	1,88	1,17 - 2,43	
		2001	4,61	3,47 - 5,46	

En general, las concentraciones máximas de Mn alcanzadas en las dos zonas resultarían excesivas para el ganado de acuerdo con el umbral de toxicidad de 1000 mg kg<sup>-1</sup> (Chaney, 1989). Sin embargo autores como Hapke (1991) consideran que los síntomas de toxicidad comienzan a aparecer a partir de los 2000 mg kg<sup>-1</sup>, en cuyo caso se tratarían de valores extremos, que, de cualquier forma, podrían seguir siendo perjudiciales para especies sensibles.

Cobre, y especialmente Ni, no llegaron a alcanzar concentraciones que pudieran considerarse problemáticas para la red trófica; solo en el caso del Cu se alcanzaron concentraciones puntuales coincidentes, en las dos zonas, con el umbral de toxicidad establecido para ovejas, 25 mg kg<sup>-1</sup>. Posteriormente, sus concentraciones fueron descendiendo, aunque sólo moderadamente. La contaminación atmosférica pudo influir en cierta medida sobre las concentraciones de Cu, pero muy poco en las de Ni, según se desprende de los valores obtenidos para las hojas de esta especie, lavadas y no lavadas (Fig. 7.7 y Tabla 7.18).

### **7.8.2. Acebuchinas**

Teniendo en cuenta que las acebuchinas son consumidas preferentemente por aves frugívoras, sólo se analizó la fracción que seleccionan estos animales (pulpa).

Al igual que sucediera con las hojas de encina, las concentraciones de As no alcanzaron niveles alarmantes, aunque sí elevados durante el primer año de estudio, especialmente en la zona afectada, donde se llegó a niveles puntuales máximos de 25 mg kg<sup>-1</sup>. En esta zona pudo producirse una mayor absorción inicial de As por parte de la planta, aunque la contaminación atmosférica también debió influir en las elevadas concentraciones obtenidas. Independientemente de su origen, la aparición de niveles próximos a 25 mg kg<sup>-1</sup> en la zona afectada debe ser considerado como un factor negativo por la incidencia que pudiera tener sobre algunas especies silvestres más sensibles a este elemento, al margen de que el umbral de toxicidad para el ganado se haya establecido en 50 mg kg<sup>-1</sup>.

**Tabla 7.19.** Concentraciones medias e intervalos correspondientes a los elementos As, Pb, Cd y Zn en la pulpa de aceitunas sin lavar en zona R, suelo de referencia, no afectado y zona A, suelo afectado por el vertido (concentraciones expresadas en mg kg<sup>-1</sup>; n = 5). Se indican valores umbrales de toxicidad para el ganado según Chaney (1989).

Elemento	Suelo	Año	Media	Rango	Valor máximo tóxico para el ganado
As	R	1999	3,74	1,40 – 7,38	50
		2000	0,75	0,21 – 1,26	
		2001	0,05	0,01 – 0,10	
	A	1999	6,65	1,03 – 24,9	
		2000	2,29	0,76 – 6,61	
		2001	0,17	0,12 – 0,21	
Pb	R	1999	6,21	0,42 – 15,0	30
		2000	0,70	0,43 – 0,85	
		2001	0,34	0,18 – 0,51	
	A	1999	9,80	0,30 – 40,7	
		2000	0,88	0,62 – 1,15	
		2001	0,29	0,20 – 0,43	
Cd	R	1999	0,14	0,043 – 0,34	0,50
		2000	0,02	0,003 – 0,03	
		2001	0,009	0,004 – 0,013	
	A	1999	1,16	0,006 – 0,58	
		2000	0,07	0,045 – 0,15	
		2001	0,03	0,007 – 0,036	
Zn	R	1999	21,2	11,7 – 37,2	500
		2000	18,1	10,5 – 21,9	
		2001	11,9	6,1 – 18,6	
	A	1999	23,0	12,6 – 52,5	
		2000	34,0	19,9 – 74,6	
		2001	19,7	9,4 – 30,3	

En el caso del Pb y Cd esta circunstancia resulta ya indiscutible, dado que en la zona afectada llegaron a superarse, durante el primer año, los umbrales de toxicidad establecidos para estos metales (Tabla 7.19). Incluso en las zonas de referencia se detectaron concentraciones comparativamente altas, derivadas posiblemente de la influencia que pudo tener inicialmente la contaminación atmosférica. Esta circunstancia, contaminación con polvo atmosférico, también debió de ser la causa de las concentraciones puntuales de Fe que se llegaron a



registrar durante el primer año, anormalmente altas en las dos zonas (Tablas 7.18 y Tabla 7.20). puede observarse que el máximo valor alcanzado en la hoja de la zona afectada ( $3160 \text{ mg kg}^{-1}$ ) es del mismo orden que el alcanzado por las acebuchinas ( $3120 \text{ mg kg}^{-1}$ ).

**Tabla 7.20.** Concentraciones medias e intervalos correspondientes a los elementos Fe, Mn, Cu y Ni la en pulpa de acebuchinas sin lavar en zona R, suelo de referencia, no afectado y zona A, suelo afectado por el vertido (concentraciones expresadas en  $\text{mg kg}^{-1}$ ;  $n = 5$ ). Se indican valores umbrales de toxicidad para el ganado según Chaney (1989).

Elemento	Suelo	Año	Media	Rango	Valor máximo tóxico para el ganado
Fe	R	1999	853	45,9 – 2210	1000
		2000	34,0	21,2 – 49,1	
		2001	37,9	25,5 – 52,3	
	A	1999	758	53,8 – 3120	
		2000	47,9	25,9 – 89,7	
		2001	36,2	21,5 – 53,7	
Mn	R	1999	11,3	4,30- 22,8	1000
		2000	3,70	0,90 – 6,20	
		2001	4,39	3,40 – 5,80	
	A	1999	10,9	5,20 – 20,9	
		2000	23,6	5,30 – 66,3	
		2001	12,9	5,20 – 27,5	
Cu	R	1999	15,9	9,30 – 29,3	100
		2000	9,24	3,30 – 12,6	
		2001	8,45	4,50 – 11,0	
	A	1999	11,2	7,60 – 22,1	
		2000	16,9	7,70 – 42,5	
		2001	10,9	6,70 – 16,4	
Ni	R	1999	1,65	1,15 – 2,78	50
		2000	0,57	0,13 – 1,08	
		2001	0,92	0,57 – 1,16	
	A	1999	1,64	1,19 – 2,39	
		2000	2,71	0,57 – 5,82	
		2001	2,16	1,02 – 3,44	

Ninguno de los restantes elementos examinados, Zn (Tabla 7.19), Mn, Fe, Cu y Ni (Tabla 7.20) alcanzaron concentraciones que pudieran considerarse

problemáticas para la red trófica. Sólo en el caso del Cu se registraron concentraciones puntuales por encima de  $25 \text{ mg kg}^{-1}$  que podrían resultar tóxicas para el ganado ovino. Sin embargo, desconocemos si estas concentraciones de Cu, comparativamente altas, podrían resultar perjudiciales para algunas de las aves autóctonas que sí consumen estos frutos.

## 7.9. CONCLUSIONES

### *Suelos*

Las encinas y acebuches estudiados se asientan sobre suelos ácidos, especialmente los de la zona afectada por el vertido, con un nivel de fertilidad de moderado a bajo. En la zona afectada se ha detectado una importante contaminación residual, reflejada por las concentraciones de S, hasta diez veces mayores que en la zona de referencia.

En general, el nivel de contaminación fue del mismo orden que el detectado en otras zonas de la cuenca del Guadiamar, aunque sin alcanzar los niveles de PLI registrados en el caso de la grama y el álamo. No obstante, se trata de suelos más problemáticos, en potencia, debido a su pH ácido, pobre contenido en  $\text{CaCO}_3$  y textura franca.

### *Variabilidad espacial de nutrientes y elementos traza*

A pesar de las características especialmente negativas de estos suelos, el conjunto de resultados obtenidos parece demostrar que la contaminación residual existente no afectó de forma importante al estado nutricional de ambas especies. Sólo en el caso del N se observó de forma generalizada una tendencia hacia la aparición de concentraciones más bajas en las hojas y frutos de las plantas afectadas, más acusada en el caso del acebuche.

En esta especie, las concentraciones de elementos traza en los tejidos de la hoja, tallo, pulpa y semilla fueron, en general, más altas en la zona afectada, aunque sin que se alcanzaran en ningún caso valores extremos. Las concentraciones de As, Cd, Zn y Ni de las hojas de los acebuches fueron mayores, significativamente, en esta zona, pero no así las de Pb, Tl y Fe, que incluso

resultaron inferiores. En todos los casos, los niveles alcanzados se situaron dentro de los intervalos considerados normales para plantas superiores. En los frutos, se registraron concentraciones de As y Cd más altas, significativamente, en la pulpa y semilla en las acebuchinas de los árboles afectados, con incrementos más altos en el caso de la semilla.

En la encina, las diferencias entre las plantas de ambas zonas fueron aún menores; sólo se detectaron aumentos significativos de Zn (hoja) y Tl (semillas) en la zona afectada. Las concentraciones de elementos traza en la hoja también se situaron dentro de los intervalos considerados normales para plantas superiores, excepto las de Mn (elemento que acumula la encina en grandes cantidades) y Fe (debido posiblemente a la contaminación atmosférica).

En general, el conjunto de resultados obtenidos, parece demostrar que ninguna de las dos especies estaba sufriendo, tres años después del vertido, un estrés notable como consecuencia de la contaminación residual todavía existente en el suelo.

#### *Edad de la hoja*

Las concentraciones de los nutrientes básicos N, P y K fueron siempre más altos en las hojas más jóvenes, de primavera, mientras que las de Ca, Mg y S lo fueron en las hojas maduras. En las hojas jóvenes también se detectó la influencia del vertido sobre las concentraciones de nutrientes, N especialmente, más bajo en la zona afectada; el acebuche resultó más afectado que la encina en este sentido.

Las concentraciones de elementos traza fueron siempre mayores en las hojas maduras, donde se acumularon progresivamente, con mayor intensidad en la zona afectada por el vertido. Los aumentos respecto a las hojas jóvenes fueron mayores en la encina que en el acebuche, debido posiblemente a que la contaminación atmosférica pudo potenciar en esta especie una mayor absorción foliar.

#### *Variabilidad temporal de nutrientes y elementos traza*

En general, las concentraciones de macronutrientes de las hojas de ambas especies presentaron un patrón evolutivo uniforme a lo largo de los tres años de estudio, salvo el S, que experimentó una clara tendencia descendente en la zona

afectada por el vertido, hasta alcanzar valores similares a los registrados en la zona de referencia durante los dos últimos años.

La evolución temporal de nutrientes confirmó el efecto parcialmente inhibitorio del vertido sobre la adquisición de algunos nutrientes básicos, como N, P y K, especialmente en el caso del acebuche, cuyas hojas alcanzaron concentraciones más bajas en la zona afectada durante los tres años. Por el contrario, las concentraciones de Ca, Mg y S tendían a ser mayores en esta zona. Las concentraciones de N de la pulpa de los frutos afectados por el vertido fue mayor que la de los no afectados, no apreciándose variación importante en el caso del P y representando el K la única excepción al comportamiento general descrito, ya que resultó más alto en las acebuchinas afectadas durante los dos primeros años.

En el caso de la encina, el efecto del vertido fue mucho más moderado, aunque todavía patente para el N de las hojas. Las concentraciones de los restantes nutrientes no experimentaron variaciones temporales apreciables en función de la zona estudiada. Tampoco se apreciaron variaciones importantes de ningún nutriente en el caso de las semillas.

Las concentraciones de elementos traza As, Pb, Tl y Fe tendieron a disminuir a lo largo de los tres años de estudio en los tejidos de la encina y acebuche, salvo en las semillas de la primera, donde no experimentaron variaciones espacio-temporales. Cd y Zn se mantuvieron constantes a lo largo del tiempo, Mn tendió a aumentar, y Cu no tuvo un comportamiento definido.

#### *Influencia potencial de elementos traza sobre la red trófica*

Las mayores concentraciones de elementos traza en las hojas de encina y pulpa de acebuche (sin descontaminar) se obtuvieron durante el primer año; aunque fueron mayores en la zona afectada por el vertido, también resultaron muy altas en la zona no afectada, circunstancia que refleja la importancia que tuvo la contaminación atmosférica (por el polvo).

De los elementos más tóxicos, sólo en casos puntuales se superaron los umbrales de toxicidad (para el ganado) de Pb y Cd, incluso en la zona no afectada. Las concentraciones de Cu de las hojas de encina también resultaron tóxicas (para el ganado lanar). Tras el primer año, las concentraciones de estos elementos

fueron descendiendo hasta niveles muy por debajo de los correspondientes umbrales de toxicidad.

Las concentraciones de Fe y Mn de las hojas de la encina podrían resultar tóxicas para los animales más sensibles, hasta el punto de que superaron los umbrales de toxicidad (para el ganado) durante los tres años de estudio (en el caso del Fe sólo en 1999 y 2000). No obstante se trata de elementos cuya toxicidad es comparativamente baja.

Se desconocen los umbrales de toxicidad de elementos traza para los animales silvestres de la zona. Aún sin alcanzar los umbrales de toxicidad establecidos para el ganado, concentraciones puntuales altas de As y metales pesados podrían resultar perjudiciales para los animales más sensibles (aves, insectos), y podrían acumularse en la red trófica.

## **8. EFECTO DE LOS ELEMENTOS TRAZA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LAS TASAS DE ABSORCIÓN Y UTILIZACIÓN DE ELEMENTOS MINERALES**

### **8.1. INTRODUCCIÓN**

La presencia de metales pesados en los suelos puede afectar al crecimiento de la planta. Un exceso de iones metálicos, o quelatos metálicos solubles, puede inducir una serie de alteraciones bioquímicas y fisiológicas en la planta como: a) daños en la membrana (Haug *et al.*, 1985; Kennedy y Gonsalves, 1987), b) alteración de las actividades enzimáticas (Van Assche y Clijsters, 1990) y c) inhibición del crecimiento de la raíz (Punz y Sieghart, 1993; Kahle, 1993; Hagemeyer y Breckle, 1996). Como consecuencia, pueden aparecer otros efectos secundarios tales como alteración del balance hormonal, deficiencia de nutrientes esenciales, inhibición de la fotosíntesis y alteración de las relaciones hídricas, que en conjunto intensificarían la reducción del crecimiento inducido por los metales (Barceló y Poschenrieder, 1990).

Los metales y las sales solubles pueden provocar estrés en las plantas mediante distintos mecanismos, predominando los efectos osmóticos en el segundo caso (además de los tóxicos y nutricionales) y los tóxicos en el caso de los metales, incluso a concentraciones muy bajas (Levitt, 1980); ambos tipos de estrés afectan al crecimiento de la planta.

En este capítulo se estudia el crecimiento del girasol, sometido a un estrés de metales pesados (y As), siguiendo los modelos utilizados en un trabajo anterior, para establecer el crecimiento de *Melilotus segetalis* sometido a estrés salino, realizado por el mismo grupo investigador del IRNAS (Romero, 1992; Romero y Marañón, 1994, 1996; Romero *et al.*, 1994).

Concretamente, en este capítulo se va a tratar el efecto de los elementos traza sobre: 1) El crecimiento total de la planta, así como el de cada una de sus fracciones; 2) La alocaión de biomasa y nutrientes, micronutrientes y elementos traza en las distintas partes de la planta; 3) Tasas de absorción y utilización de los distintos elementos estudiados.

### **8.1.1. Análisis de crecimiento: definición y cálculo**

La estimación de los parámetros comunes que describen el crecimiento de una planta, se puede realizar siguiendo tres enfoques analíticos: clásico, funcional e integral (Chiariello *et al.*, 1989).

En este estudio sólo se va a aplicar el enfoque clásico, que permite obtener valores medios para diversos parámetros de crecimiento, considerados en un intervalo de tiempo comprendido entre dos cosechas consecutivas. Las ecuaciones de cálculo se obtienen por integración de las expresiones instantáneas, considerando que los parámetros de crecimiento correspondientes permanecen constantes en el intervalo de integración (tiempo entre cosechas).

#### **A) Tasa de Crecimiento Relativo (RGR, R)**

Constituye el parámetro fundamental del análisis de crecimiento tradicional; también ha sido denominado tasa de crecimiento específico. En general, la tasa de crecimiento relativo expresa el crecimiento como el incremento de tamaño por unidad de tiempo. Aunque habitualmente se utiliza el peso seco total de la planta, pueden emplearse otras medidas de tamaño, o referirse al crecimiento de determinados órganos.

Las tasas de crecimiento relativo son especialmente útiles cuando se necesita comparar la respuesta de un material vegetal desconocido (especie, variedad) a los efectos de determinados tratamientos.

Aunque el símbolo más frecuente utilizado es RGR (del inglés "*relative growth rate*"), también puede encontrarse en la bibliografía el de R. Suele expresarse mediante las unidades  $\text{g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$  o como porcentajes sobre los controles, cuando incluyen varios tratamientos.

Se define por la ecuación diferencial:

$$\text{RGR} = \frac{1}{W} \cdot \frac{dW}{dt} = \frac{d(\ln W)}{dt} = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$$

donde  $W$  es el peso seco total de la planta (g o mg) en la primera ( $W_1$ ) y segunda cosecha ( $W_2$ ),  $t$  el tiempo (día, semana), siendo  $t_1$  la edad de la planta en la primera cosecha y  $t_2$  en la segunda. Teóricamente,  $W$  representa el peso seco del total de los tejidos vivos, pero en muchas investigaciones no es posible separar los tejidos vivos de los muertos, utilizándose la biomasa total (Chiariello *et al.*, 1989).

#### B) Tasa de Asimilación Neta (NAR)

La tasa de asimilación neta ("*net assimilation rate*", NAR, en inglés) es considerada como una medida de la eficiencia de los órganos fotosintéticos para producir nuevo crecimiento, reflejando la disponibilidad de recursos (especialmente luz) y la disposición foliar. Algunos autores la denominan ULR (del inglés, "*unit leaf rate*"). Aunque para su cálculo es habitual considerar el área foliar, también pueden emplearse otras medidas, como la biomasa foliar (en este estudio), contenido de nitrógeno, contenido de clorofila, proteína foliar o enzimas carboxilantes. Este parámetro ha sido considerado como el componente "fisiológico" de RGR, aunque Poorter (1989) le concede mayor importancia, dado que este parámetro puede incluir tanto aspectos relacionados con la biomasa como con la composición química; generalmente es correlacionado con la razón de fotosíntesis por unidad de área foliar (Poorter y Van der Werf, 1998).

Los valores de NAR varían entre especies (Konings *et al.*, 1989), entre condiciones ambientales y según la disponibilidad de nitrógeno (McDonald, 1989). La tasa NAR indica la producción de peso seco ( $W$ ) por unidad de tiempo, en función del área foliar ( $A$ ). Suele expresarse como  $\text{mg mm}^{-2} \text{ día}^{-1}$  o  $\text{g m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ , a partir de la fórmula:



$$\text{NAR} = \frac{1}{A} \cdot \frac{dW}{dt}$$

donde  $A$  es el área de los órganos fotosintéticos,  $W$  el peso seco total de la planta y  $t$  el tiempo.

Al calcular el valor medio de NAR, existe el problema de que se trata de una función con dos variables dependientes del tiempo. Hunt (1990), asigna como valor medio aproximado, la ecuación:

$$\text{NAR} = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1} \cdot \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{A_2 - A_1}$$

Se puede calcular la tasa NAR en función del área ( $\text{NAR}_{\text{área}}$ ) o de la masa foliar ( $\text{NAR}_{\text{masa}}$ ). En este estudio se ha utilizado el peso foliar.

#### C) Razón de Peso Foliar (LAR)

Es la razón entre el área foliar y el peso seco de la planta, LAR (del inglés "leaf area ratio"). Representa la cantidad relativa de biomasa que la planta invierte en la consecución del área foliar (Lambers *et al.*, 1989). Al igual que NAR, varía ampliamente entre especies (Konings, 1989), dependiendo de las condiciones ambientales y aportes de nitrógeno (Sage y Pearcy, 1987).

Suele expresarse como  $\text{mm}^2 \text{mg}^{-1}$  o  $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$  partir de la fórmula:

$$\text{LAR} = \frac{A}{W}$$

donde  $A$  representa el área foliar y  $W$  el peso seco total de la planta.

El valor medio aproximado para una determinada relación lineal, y para el intervalo  $t_1$  a  $t_2$ , cuando los pares de medias del área foliar y peso seco de la planta son  $(A_1, W_1)$  y  $(A_2, W_2)$  respectivamente, viene dado por la ecuación (Hunt, 1990):

$$\text{LAR} = \frac{(A_1/W_1) + (A_2/W_2)}{2}$$

Generalmente, este parámetro se descompone en dos términos, la razón de peso foliar (LWR, del inglés "*leaf weight ratio*") y el área foliar específica (SLA, del inglés "*specific leaf area*"):

$$LA = \frac{A}{W} = \frac{W_L}{W} \cdot \frac{A}{W_L} = LWR \cdot SLA$$

donde  $W_L$  es la masa foliar y  $W$  es la masa total de la planta;  $A$  es el área foliar.

#### D) Área Foliar Específica (SLA)

Es la razón entre el área foliar y la masa foliar. Varía considerablemente entre especies e incluso puede mostrar gran plasticidad intraespecífica. Este parámetro es un índice importante de la estructura foliar. Su inversa, el parámetro generalmente denominado peso específico foliar ( $Wz$ ), está relacionado positivamente con el grosor foliar.

El valor medio de la tasa foliar específica (SLA) en el intervalo  $t_1$  a  $t_2$ , viene dado por la ecuación:

$$SLA = \frac{(A_1/W_{L1}) + (A_2/W_{L2})}{2}$$

Siendo  $(A_1, W_{L1})$  y  $(A_2, W_{L2})$ , las áreas foliares y pesos foliares en  $t_1$  y  $t_2$  respectivamente.

#### E) Razón de Peso Foliar (LWR)

Es la razón entre el peso seco foliar y el peso seco total de la planta ("*leaf weight ratio*", en inglés). Hunt (1990) lo considera como una medida de "inversión productiva" de la planta, puesto que es un índice de la cantidad de recursos que puede derivar una planta hacia órganos potencialmente fotosintetizadores.

Se define a partir de la fórmula:

$$LWR = \frac{W_L}{W}$$

donde  $W_L$  representa el total del peso seco foliar y  $W$  el peso seco total de la planta. A partir de la cual se obtienen valores adimensionales.

El valor medio de la razón del peso foliar al peso seco de la planta, en el intervalo  $t_1$  a  $t_2$ , viene dado por la ecuación:

$$LWR = \frac{(W_{L1}/W_1) + (W_{L2}/W_2)}{2}$$

Siendo  $(W_{L1}, W_1)$  y  $(W_{L2}, W_2)$ , los pesos secos foliares y pesos secos totales de la planta en  $t_1$  y  $t_2$  respectivamente.

#### F) Tasa de Absorción Específica (SAR)

Representa un índice de la eficacia de absorción de elementos minerales por parte de las raíces, en relación con alguna medida del tamaño de la raíz (del inglés "*specific absorption rate*"). Se define como la tasa de la absorción del nutriente mineral ( $M$ ) respecto al tiempo, de una planta en su conjunto, expresada por unidad del total del tamaño de la raíz,  $R$  (peso, longitud, área, volumen, número).

Los valores SAR suelen expresarse como  $\text{mg mg}^{-1} \text{ día}^{-1}$  a partir de la fórmula:

$$A = \frac{1}{R} \cdot \frac{dM}{dt}$$

donde  $R$  es una de las medidas del tamaño de la raíz (en este estudio será peso;  $M$  es el contenido total de un elemento mineral en la planta). El valor medio en el intervalo de  $t_1$  a  $t_2$ , cuando los pares de medidas son  $(M_1, R_1)$  y  $(M_2, R_2)$ , es:

$$SAR = \frac{M_2 - M_1}{t_2 - t_1} \cdot \frac{\ln R_2 - \ln R_1}{R_2 - R_1}$$

$M$  puede referirse a los contenidos combinados de más de un elemento mineral.

#### G) Tasa de Utilización Específica (SUR)

Representa un índice de la eficiencia productiva de los nutrientes minerales una vez absorbidos por la planta, dado que es una medida de la contribución del nutriente al peso seco de la planta (del inglés "*specific utilization rate*"). Representa, por tanto, la productividad del nutriente.

Los valores SUR suelen expresarse como  $\text{mg mg}^{-1} \text{ día}^{-1}$  o  $\text{g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , a partir de la fórmula:

$$U = \frac{1}{M} \cdot \frac{dW}{dt}$$

donde  $W$  representa la producción de peso seco de la planta y  $M$  el contenido del elemento mineral en cuestión.

El valor medio para el intervalo de  $t_1$  a  $t_2$ , cuando los pares de medias son  $(M_1, W_1)$  y  $(M_2, W_2)$ , es aproximadamente:

$$\text{SUR} = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1} \cdot \frac{\ln M_2 - \ln M_1}{M_2 - M_1}$$

donde  $M$  puede ser el contenido combinado de más de un nutriente mineral.

#### H) Tasa de Producción de Componentes (CPR)

Representa un índice de la contribución de la planta completa a la producción de uno de sus componentes, tales como raíces, tallos u hojas. Indicaría la tasa de producción de peso seco del iésimo componente de la planta ( $w_i$ ) respecto al tiempo, expresado por unidad del total del peso seco ( $W$ ).

Los valores de CPR (del inglés "*component production rate*") suelen expresarse como  $\text{mg mg}^{-1} \text{ día}^{-1}$  o  $\text{g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$  a partir de la fórmula instantánea:

$$\text{CPR} = \frac{1}{W} \cdot \frac{dw_i}{dt}$$

El valor medio para el intervalo de  $t_1$  a  $t_2$ , cuando los pares de medidas son  $(w_1, W_1)$  y  $(w_2, W_2)$ , es aproximadamente:

$$\text{CPR} = \frac{w_2 - w_1}{t_1 - t_2} \cdot \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{W_2 - W_1}$$

#### I) Tasa de Alocación Relativa a la Biomasa (ARB)

Se ha calculado como la razón entre la alocación relativa de un elemento en una parte de la planta y la biomasa relativa alocada en esa misma parte de la planta (ARB, del inglés "*allocation relative to biomass*"). Indica si en un órgano de la planta se produce una "acumulación" de nutrientes en comparación con su alocación de biomasa (como suele ocurrir en las semillas) o bien una "dilución" (por ejemplo en los tallos; Abrahamson y Caswell, 1982). Más información sobre alocación de biomasa puede obtenerse en Poorter y Nagel (2000).

Se calcula mediante la razón del porcentaje de un nutriente en un órgano determinado de la planta y el porcentaje de biomasa alocada en dicho órgano.

## 8.2. ESPECIE DE ESTUDIO

El girasol (*Helianthus annuus* L.) es una planta anual de un solo tallo y una inflorescencia grande y visible, que pertenece al orden de las *Synandrales*, y la familia *Compositae*. La altura, tamaño del botón floral y tiempo de madurez varía ampliamente entre las variedades cultivadas. Estas características varían también con la utilización de la planta, ya sea como fuente de aceite (comestible), como alimento para humanos ("pipas") o alimento para animales (alimento de pájaros y mascotas), o como planta ornamental. En las variedades silvestres también existen muchas variaciones (Carter, 1978).

El girasol se cultiva en varios tipos de clima, desde tierras áridas (irrigadas) a regiones templadas (secano). Bajo condiciones extremas de sequía y poca fertilidad del suelo, se desarrolla mejor que la mayoría de los cultivos (EUROCONSULT, 1989).

El sistema radical consta de una raíz principal con numerosas raíces secundarias en los 10-15 cm primeros de suelo, donde se sitúa el 80-90 % del total del sistema radical (CETIOM, 1992). El tallo de las distintas variedades de girasol no tiene ramificaciones. La altura de las distintas variedades va de 40 cm a más de dos metros, con un diámetro entre 2-6 cm (Alba y Llanos, 1990).

Las hojas varían en número, tamaño, forma del limbo, forma de la punta y base, forma del margen, propiedades de la superficie, pilosidades, características de los pecíolos e intensidad del color. Estas variaciones parecen estar relacionadas con la variedad y condiciones ambientales del cultivo. Los estomas son grandes, más abundantes en la parte más baja de la hoja que en la superior (Carter, 1978).

La inflorescencia es un "capítulo" o cabeza. Tiene 700-3000 flores en las variedades de semillas de aceite, y más de 8000 flores en cultivos de semillas no oleaginosas. El rango del diámetro de la cabeza va de 10-40 cm, y puede ser cóncava o convexa (CETIOM, 1992).

El aquenio o fruto del girasol consiste en una semilla con pericarpo adherido. Todos los aquenios desarrollan una cubierta incluso si la semilla no se desarrolla. Los aquenios varían en longitud, 3-20 mm, anchura, 2-13mm, y grosor, 2,5-5 mm. El peso de 100 aquenios puede oscilar entre 4 y 20 g. El volumen de densidad de las semillas es alrededor de 390 kg m<sup>3</sup>. El aceite de estos frutos está muy valorado por su alto contenido en ácidos grasos (Carter, 1978).

#### *Factores ambientales*

El girasol se adapta bien tanto a las temperaturas altas (25 a 30 °C) como a las bajas (12 a 17 °C). La temperatura óptima está entre 21 y 24 °C y la temperatura mínima para su desarrollo es 6 °C (CETIOM, 1992). La duración del crecimiento puede ir desde 120 a 150 días (Alba y Llanos, 1990).

El girasol tiene una alta tasa de asimilación fotosintética. Es una planta poco eficiente en el aprovechamiento del agua cuando dispone de ella en abundancia. Pero en condiciones de escasez de agua, el girasol se muestra mucho más eficiente en su aprovechamiento. Su sistema radical profundo le permite extraer agua del suelo a una profundidad a la que otras especies no pueden llegar (Alba y Llanos, 1990).

El girasol no es un cultivo muy exigente en cuanto al suelo. Puede crecer bien en un rango muy amplio de texturas que van desde arcillosa a arenosa. Por

otro lado, no requiere una fertilidad tan alta como otros cultivos para producir un rendimiento aceptable; solo es necesario que el suelo tenga un buen drenaje. Es un cultivo poco tolerante a la salinidad. El girasol no se considera una planta muy sensible al pH, ya que puede crecer en suelos con pH que van desde 5,8 a 8 (Alba y Llanos, 1990).

### **8.3. DISEÑO EXPERIMENTAL**

Para el estudio del crecimiento y composición del girasol a lo largo de su ciclo vegetativo y reproductor se establecieron dos parcelas experimentales, de unos 5000 m<sup>2</sup> cada una. Una de las parcelas se situó sobre un suelo afectado por el vertido (37° 27' 42,9" N, 6° 12' 39" O), del que previamente se habían retirado los lodos y añadido enmiendas. La segunda parcela, a unos dos km de la anterior (37° 27' 31,3" N, 6° 12' 13,8" O), se situó en una zona que no había sido afectada por el vertido, la cual podría ser considerada como un control, a efectos comparativos.

La preparación del terreno para la siembra se realizó mediante un cultivador tipo "chisel"; como abonado de fondo se aplicó antes de la siembra un abono complejo 15N-15P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-15K<sub>2</sub>O a razón de 400 kg ha<sup>-1</sup> en ambas parcelas. Tras la siembra se realizó un abonado de cobertera con urea (a razón de 55 kg ha<sup>-1</sup>); se aplicó glifosato como herbicida de pre-siembra. La siembra (de la variedad "Sambro") se realizó el 21 de Febrero del año 2000, estableciéndose una densidad final de aproximadamente 60.000 plantas ha<sup>-1</sup>.

#### **8.3.1. Cosechas**

Se realizaron cuatro cosechas de plantas, la primera durante el período vegetativo y las tres restantes durante el período reproductor. Para la identificación del estado del cultivo en cada muestreo se siguió el criterio de Schneiter y Miller (1981).

La primera cosecha se realizó un mes después de la siembra (21/03/00), durante el estado vegetativo V4, esto es, plantas con cuatro hojas verdaderas de al menos 4 cm de longitud. La segunda se realizó unos dos meses después de la siembra (26/04/00), en el estado reproductor R2 (el botón floral, inmaduro,

sobresale entre 0,5 y 2 cm por encima de las hojas más próximas). La tercera cosecha, tres meses después de la siembra, se realizó durante el estado reproductor R5.5 (24/05/00), una vez comenzada la antesis y ya con un 50 % del disco floral en floración. La cuarta y última cosecha se efectuó el 27/06/00, durante el estado reproductor R8, en el que la base del capítulo amarillea, pero las brácteas permanecen todavía verdes.

En cada cosecha fueron seleccionados al azar tres puntos en cada parcela experimental, separados entre sí unos 20 m; en cada punto se cosecharon tres plantas completas. En la primera cosecha (con plantas pequeñas) cada replicado consistió en tres lotes de plántulas (tres plántulas por lote, recolectadas dentro de una zona de unos 10 m<sup>2</sup>). De este modo, siempre se dispuso de nueve plantas completas por cosecha y parcela experimental (excepto lotes de nueve plántulas, en la primera cosecha). En todos los casos se tomaron plantas completas, excavando lo suficiente alrededor de cada planta para obtener el sistema radical lo más completo posible.

Durante el primer muestreo también se tomaron muestras de suelo (en profundidades de 0-25 cm y 25-40 cm) en las zonas donde se recolectaron las plántulas, lo que hizo un total de tres muestras de suelo y otras tres de subsuelo por cada parcela experimental.

Las plantas fueron transportadas inmediatamente al laboratorio donde se separó el sistema radical de la parte aérea, efectuándose un primer lavado con agua de la red.

Antes de proceder a la descontaminación de las distintas fracciones en que se subdividió la parte aérea, se procedió a medir el área foliar de todas las hojas de cada planta (incluidos los cotiledones en el primer corte) mediante un medidor de área foliar (SKYE, Inglaterra). En el cuarto muestreo no se pudo medir el área porque las hojas ya estaban secas.

Las fracciones separadas en cada muestreo fueron las siguientes: hojas, cotiledones, tallo y raíz (primer muestreo); botón floral, hojas, pecíolos, tallo y raíz (segundo y tercer muestreo) y semillas, capítulos, hojas, pecíolos, tallo y raíz (cuarto muestreo). Todas estas fracciones fueron pesadas en fresco, descontaminadas mediante breves lavados (ver apartado general de métodos), secadas en estufa a 70°C y pesadas en seco antes de su molienda.



### 8.3.2. Características de los suelos de las parcelas experimentales

La Tabla 8.1 muestra las características generales de los suelos de las dos parcelas experimentales. De las texturas obtenidas se deduce que el suelo de la parcela no afectada por el vertido (control) era algo más suelto (arenoso) que el de la parcela afectada, con un contenido de carbonatos más bajo. Sin embargo el pH fue prácticamente igual en ambos suelos.

**Tabla 8.1.** Características generales de los suelos de las parcelas experimentales: C, no afectada por el vertido (control) y A, afectada por el vertido. Valores medidos sobre suelo seco (n = 3).

Parcela	Profundidad (cm)	pH	CaCO <sub>3</sub>	Textura
C	0 - 25	8,0	4,0	Franco-arcillo-arenoso
A		7,8	22,0	Franco-arcillo-limoso
C	25 - 40	7,9	6,0	Franco arcilloso
A		7,9	22,0	Franco-arcillo-limoso

El girasol no es un cultivo muy exigente en suelo, hasta el extremo de que puede crecer muy bien en un intervalo muy amplio de texturas, que van desde arcillosa a arenosa (Alba y Llanos, 1990). También soporta un amplio intervalo de pH, que puede ir desde 5,7 a >8 (Alba y Llanos, 1990). Sólo una acidez excesiva podría comprometer su crecimiento.

**Tabla 8.2.** Concentración de nutrientes de los suelos de las parcelas experimentales: C, no afectada por el vertido (control) y A, afectada por el vertido. Valores medidos sobre suelo seco (n = 3).

Parcela	Profundidad (cm)	N (%)	P (mg kg <sup>-1</sup> )	K (mg kg <sup>-1</sup> )
C	0 - 25	0,08	18,2	319
A		0,08	13,3	305
C	25 - 40	0,08	11,5	274
A		0,07	6,5	271

Los contenidos de nutrientes N, P y K de ambos suelos fueron, además, bastante similares (N y K especialmente, Tabla 8.2). Los contenidos algo más bajos de P del suelo afectado por el vertido podrían estar relacionados con su mayor contenido en CaCO<sub>3</sub> (mayor fijación de P). Pero, en general, cualquier

diferencia nutricional que hubiera existido entre ambas parcelas habría quedado enmascarada por la generosa fertilización que recibió el cultivo en ambas parcelas.

En este estudio, se supone que el nivel de contaminación de los suelos es el principal factor discriminante que puede ocasionar diferencias significativas de crecimiento y composición del girasol entre las dos parcelas.

**Tabla 8.3.** Concentraciones de S y elementos traza extraídos con *aqua regia* en los suelos de las parcelas. C, no afectada por el vertido (control) y A, afectada por el vertido. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 3$ ). Diferencias significativas entre los dos tipos de suelo ( $p < 0,05$ ) se indican con asterisco.

Parcela	Profundidad (cm)	S	As	Pb	Zn
C	0 - 25	228 $\pm$ 23,5*	10,4 $\pm$ 0,76 *	29,5 $\pm$ 4,28*	60,6 $\pm$ 0,85*
A		4633 $\pm$ 380	65,6 $\pm$ 6,30	113 $\pm$ 11,0	209 $\pm$ 17,9
C	25 - 40	245 $\pm$ 11,5*	11,4 $\pm$ 1,30	32,4 $\pm$ 6,11	61,3 $\pm$ 1,32
A		1642 $\pm$ 509	24,1 $\pm$ 7,90	42,3 $\pm$ 12,8	99,5 $\pm$ 23,4

El nivel de contaminación del suelo de la parcela afectada por el vertido fue mayor en los primeros 25 cm de suelo. Las concentraciones totales de S, As, Pb y Zn (Tabla 8.3) y disponibles de As, Cd, Pb y Zn (Tabla 8.4) fueron mayores que las obtenidas en la parcela control, con diferencias significativas en todos los casos. En la profundidad de 25-40 cm sólo la concentración total de S y disponible de As resultaron más altas, significativamente, en la parcela afectada.

**Tabla 8.4.** Concentraciones disponibles de elementos traza extraídas con EDTA. C, parcela no afectada por el vertido (control) y A, parcela afectada por el vertido. Valores medios  $\pm$  error estándar sobre suelo seco ( $n = 3$ ). Diferencias significativas entre los dos tipos de suelo ( $p < 0,05$ ) se indican con asterisco.

Parcela	Profundidad (cm)	As	Cd	Pb	Zn
C	0 - 25	0,04 $\pm$ 0,02 *	0,03 $\pm$ 0,01*	9,90 $\pm$ 2,6 *	2,20 $\pm$ 0,06 *
A		0,30 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,03	19,7 $\pm$ 1,8	39,5 $\pm$ 5,1
C	25 - 40	0,008 $\pm$ 0,002*	0,03 $\pm$ 0,003	9,7 $\pm$ 2,7	2,1 $\pm$ 0,14
A		0,10 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,03	7,9 $\pm$ 2,1	13,4 $\pm$ 5,6

En la profundidad de 0-25 cm la concentración total de S fue 20 veces más alta en el suelo afectado que en el control, 6 veces la de As y 4 veces la de Pb y Zn (Tabla 8.3). En el caso del As se alcanzaron valores por encima de los 20 mg kg<sup>-1</sup> (en las dos profundidades), umbral considerado fitotóxico (Ross, 1994). Los

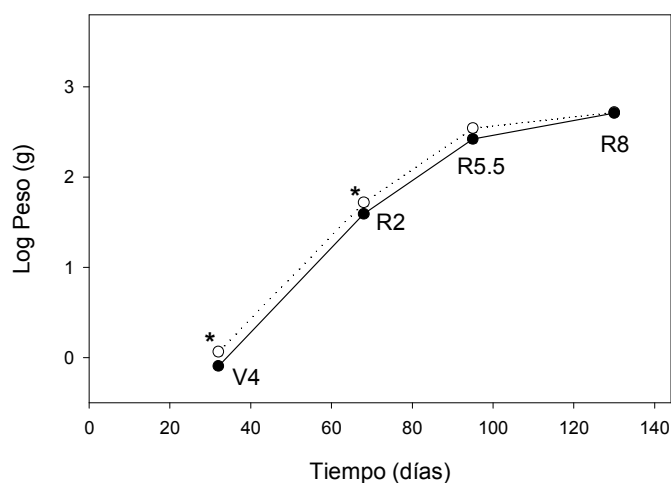
incrementos de disponibilidad (fracción extraíble con EDTA), fueron del mismo orden para As y Cd (8 veces más altos), algo más bajo para el Pb y mucho más alto en el caso del Zn (20 veces más alto en el suelo afectado, Tabla 8.4).

## 8.4. CRECIMIENTO Y ALOCACIÓN

### 8.4.1. Biomasa

En el presente estudio, el crecimiento se ha estudiado como el aumento de la biomasa producida a lo largo del ciclo vegetativo y reproductor de la planta. Los datos siempre se han referido a peso seco, parámetro mucho más fiable que el peso fresco, ya que la proporción de agua en los tejidos puede experimentar variaciones importantes en función de variables externas.

En general, el peso seco total de la planta fue menor en la parcela afectada por el vertido que en la parcela no afectada (control), según refleja la Figura 8.1 (donde los pesos se han representado en escala logarítmica). El posible efecto negativo de los elementos traza sobre la producción de biomasa fue más acusado en las primeras fases del desarrollo de la planta, mientras que no hubo diferencias significativas en la biomasa total a los 100 y 130 días.



**Figura 8.1.** Variación temporal de biomasa en plantas de girasol controles (○) y afectadas por el vertido (●). Diferencias significativas entre tratamientos se indican con un asterisco ( $p < 0,05$ ).

La mayor inhibición del crecimiento durante las primeras fases del crecimiento pudo estar relacionada con la mayor sensibilidad de las plantas jóvenes a la presencia de elementos traza, sobre las que podrían haber incidido desde el proceso de germinación. La joven radícula habría sido especialmente afectada, con consecuencias negativas para el crecimiento general de la planta (Tabla 8.5).

**Tabla 8.5.** Peso seco de las plantas de girasol en la parcela control (C) y afectada por el vertido (A) en función del estado fenológico de la planta (valores medios  $\pm$  error estándar). Se indica el porcentaje de reducción del peso seco en la parcela afectada respecto a la no afectada.

Estado fenológico	Edad (días)	Peso seco (A)	Peso seco (C)	Reducción de peso en la parcela A (%)
V4	30	0,81 $\pm$ 0,04	1,19 $\pm$ 0,10	32
R2	70	39,6 $\pm$ 2,3	54,2 $\pm$ 5,3	27
R5.5	90	273 $\pm$ 26	362 $\pm$ 36	24,4
R8	130	519 $\pm$ 32	532 $\pm$ 38	2,5

Durante las fases iniciales del crecimiento es mucho mayor la demanda de nutrientes por unidad de longitud del sistema radical, es decir, predomina la intensidad de absorción de nutrientes sobre la intensidad de crecimiento (Mengel y Kirkby, 1987).

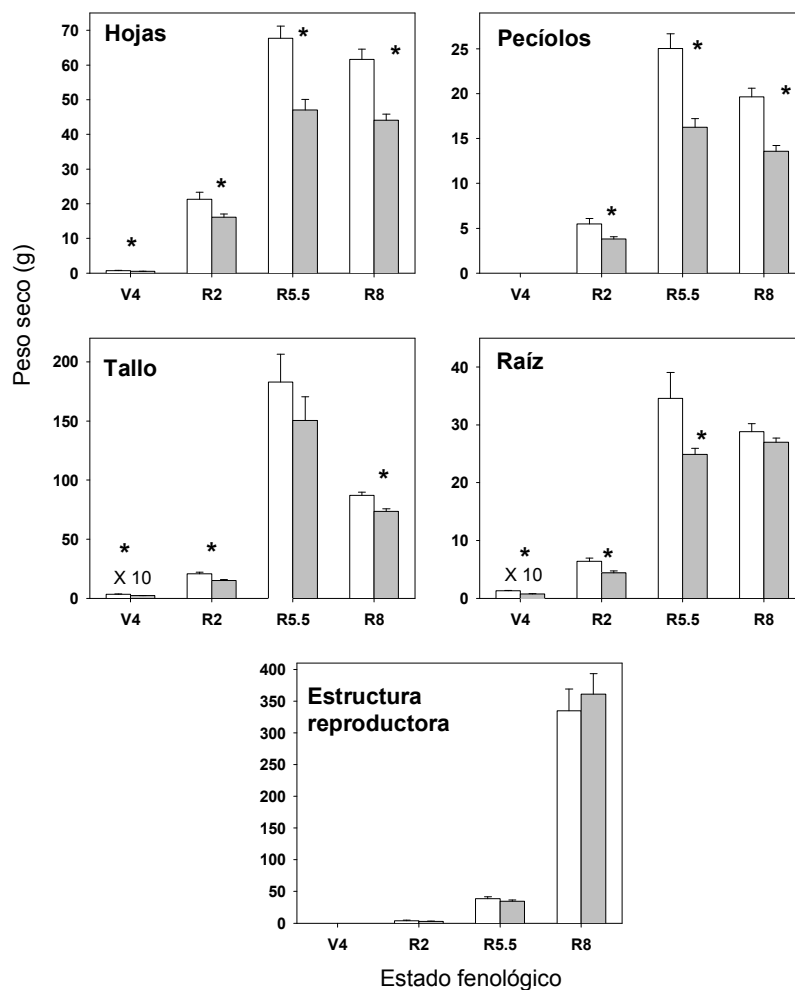
Cuando se analizan por separado los distintos órganos de la planta (Fig. 8.2), se comprueba que, en general, la biomasa de los mismos fue menor en la parcela afectada, excepto en el caso de las estructuras reproductoras en el estado R8 (capítulo con semillas), que fue algo mayor en las plantas afectadas. La Tabla 8.6 muestra que el sistema radical experimentó una inhibición mayor, en cuanto al cociente entre el peso seco de la planta no afectada y el de la afectada, durante el período vegetativo.

**Tabla 8.6.** Relaciones entre el peso seco de las distintas fracciones en plantas no afectadas (control) y afectadas por el vertido.

Estado fenológico	Hoja	Tallo	Sistema radical
V4	1,42	1,52	1,66
R2	1,30	1,37	1,46
R5,5	1,43	1,21	1,30
R8	1,40	1,18	1,06

Por otra parte, el mayor peso de las estructuras reproductoras (capítulo y semillas) durante el estado R8, en la parcela afectada por el vertido (aunque la

diferencia no fuera significativa, Fig. 8.2), podría indicar un mayor “esfuerzo inversor” de la planta en estas estructuras ante una situación de estrés, que le asegurase su supervivencia. Se trata de un fenómeno fisiológico observado en distintas especies sometidas a estrés (incluido el ejercido por las sales, Romero, 1992).

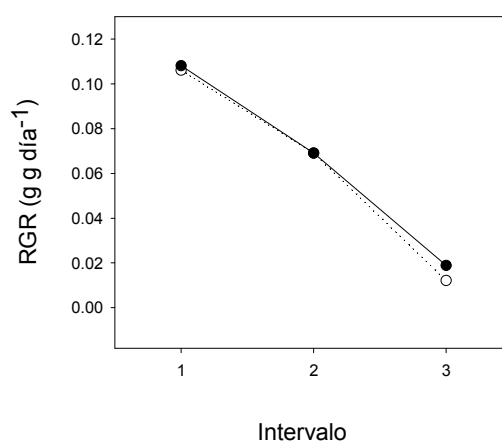


**Figura 8.2.** Peso seco de las distintas fracciones separadas de girasol, en los distintos estados de desarrollo estudiados. Las barras indican  $\pm$  error estándar (en blanco fracciones control y en gris fracciones afectadas por el vertido. Diferencias significativas entre tratamientos se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

### 8.4.2. Crecimiento

Las tasas de crecimiento relativo, RGR, disminuyeron a lo largo del ciclo de vida de la planta (Fig. 8.3). No se apreciaron diferencias entre ambas parcelas, afectada y no afectada, salvo en el último intervalo. En este intervalo se obtuvieron valores ligeramente más altos en la parcela afectada por el vertido, posiblemente asociados a la mayor inversión de biomasa realizada por la planta en la formación de semillas, ante la situación de estrés originada por la presencia de elementos traza.

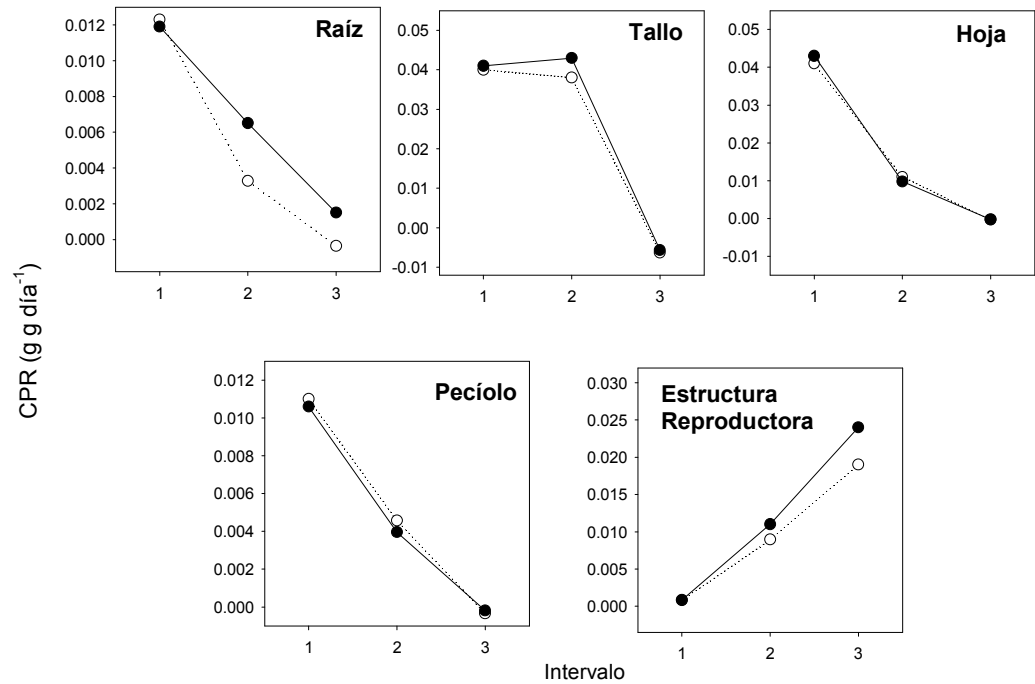
Los cambios de RGR también han sido usados como criterio biológico para indicar una reducción en el crecimiento en ausencia de un recurso (Poorter y Nagel, 2000); como se aprecia en la Figura 8.3, los resultados obtenidos no indican ausencia de ningún recursos en la parcela afectada, al obtenerse resultados similares en ambas parcelas.



**Figura 8.3.** Variación temporal de la tasa de crecimiento relativo (RGR), en plantas de girasol control (○) y afectadas por el vertido (●).

Los valores RGR alcanzan su verdadera dimensión cuando se desglosan en los valores parciales correspondientes a las tasas de producción de biomasa de cada órgano en particular, esto es, lo que se conoce bajo el nombre de tasa de producción de componentes (CPR).

Como indica Hunt (1990) los valores CPR representan los índices del compromiso de la planta completa hacia la producción de cada uno de sus componentes, como raíces, tallos o folíolos. Hay que tener en cuenta que a medida que transcurre el crecimiento se produce la diferenciación y formación de tejidos que no contribuyen al crecimiento, por lo que la descomposición, como suma algebraica, del valor de RGR para cada fracción permite valorar la contribución real de cada una de ellas al crecimiento.



**Figura 8.4.** Variación temporal de las tasa de producción de componente de las distintas fracciones del girasol (CPR). (O) plantas control y (●) plantas afectadas por el vertido.

Puede comprobarse (Fig. 8.4) que las fracciones de hoja, pecíolo y tallo, presentaron un comportamiento descendente, y bastante similar en ambas parcelas. Sólo se registró un claro comportamiento diferencial en el caso del capítulo (botón floral, en sus estadios finales) y de la raíz (intervalo 2 y 3). En el caso de las estructuras reproductoras los valores más altos de CPR para las

plantas contaminadas serían consecuencia del mayor “esfuerzo inversor” realizado por la planta para su continuidad, ante la situación de estrés ocasionada por los elementos traza. En el caso de la raíz, después una inhibición fuerte del crecimiento en los primeros estadíos de las plantas afectadas (Tabla 8.6), parece existir una cierta recuperación alcanzando niveles de biomasa radicular semejante a los de las plantas control (Tabla 8.6). Es decir, una biomasa similar en menos tiempo significa una mayor tasa de crecimiento.

El comportamiento general de las fracciones no reproductoras fue descendente, ocasionado por la disminución de su biomasa (en la última fase cuando la planta comienza a secarse, se alcanzaron valores negativos debido a esta pérdida de biomasa, respecto al estado anterior). Este descenso fue algo más lento en el caso de los tallos, ya que el valor máximo ( $0,043 \text{ g g día}^{-1}$  en la parcela afectada, Fig. 8.4) se alcanzó en el intervalo R2-R5.5 (intervalo 2).

Los limbos de las hojas, por el contrario, alcanzaron el valor máximo en el primer intervalo, experimentando ya un descenso considerable en el siguiente intervalo, cuando todavía los tallos (mecanismos de sostén) estaban aumentando.

Los pecíolos mostraron un comportamiento bastante similar al de los limbos, siendo la fracción que menor contribución aportó al valor total de RGR (valor máximo de  $0,011 \text{ g g día}^{-1}$  en la parcela no afectada por el vertido, en el primer intervalo).

La estructura reproductora tuvo un comportamiento opuesto al de las restantes fracciones, consecuencia del desarrollo del capítulo. Según se ha indicado, sólo en dicha fracción (junto con la raíz) se observó un comportamiento diferencial entre parcelas, siendo las plantas de la parcela afectada las que mostraron un mayor “esfuerzo inversor” en estructuras reproductoras.

En resumen, los resultados obtenidos parecen indicar que el girasol siguió inicialmente un patrón de crecimiento bastante similar en ambas parcelas (dentro de las diferencias de biomasa global generadas por la presencia de elementos traza) apareciendo solamente un comportamiento diferencial cuando la planta tuvo que formar semillas (la presencia de elementos traza pudo forzar una mayor inversión en este sentido).

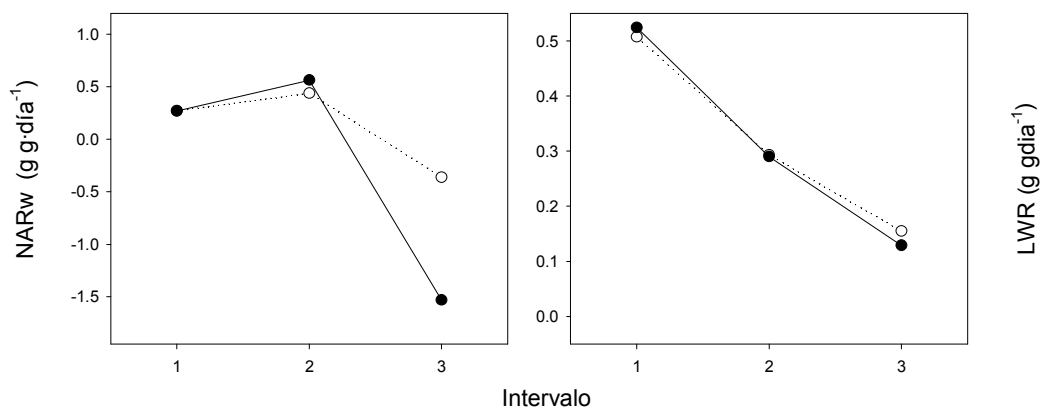
La evolución del crecimiento relativo también se puede analizar en función de los parámetros NAR y LAR. Las tasas de asimilación neta NAR fueron calculadas en función de la biomasa foliar, de forma que representan un índice de la capacidad asimilatoria fotosintética de la planta por unidad de biomasa foliar.



Ahora bien, hay que tener en cuenta que la superficie fotosintética no tiene que estar relacionada forzosamente con la "actividad fotosintética", por lo que no siempre va a existir una relación directa entre ambos parámetros.

Los valores de NAR alcanzaron los mayores valores coincidiendo con el máximo desarrollo de las hojas (segundo intervalo, R2 a R5.5), descendiendo luego bruscamente con la madurez de la planta, especialmente en la parcela afectada por el vertido (Fig. 8.5), donde se alcanzó el valor más bajo de todos los registrados ( $-1,53 \text{ g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ) como consecuencia de la mayor pérdida de biomasa foliar experimentada en esta parcela.

Los valores LAR (razón de peso foliar) no han podido calcularse al carecer del área foliar del último estado, y por tanto los datos no serían comparables. Como se dijo en el apartado 8.1.1, se puede calcular LAR como  $\text{LWR (razón de peso foliar)} \cdot \text{SLA (área foliar específica)}$ , aunque este último tampoco lo podemos obtener por las mismas razones que LAR, sí que se puede calcular LWR.



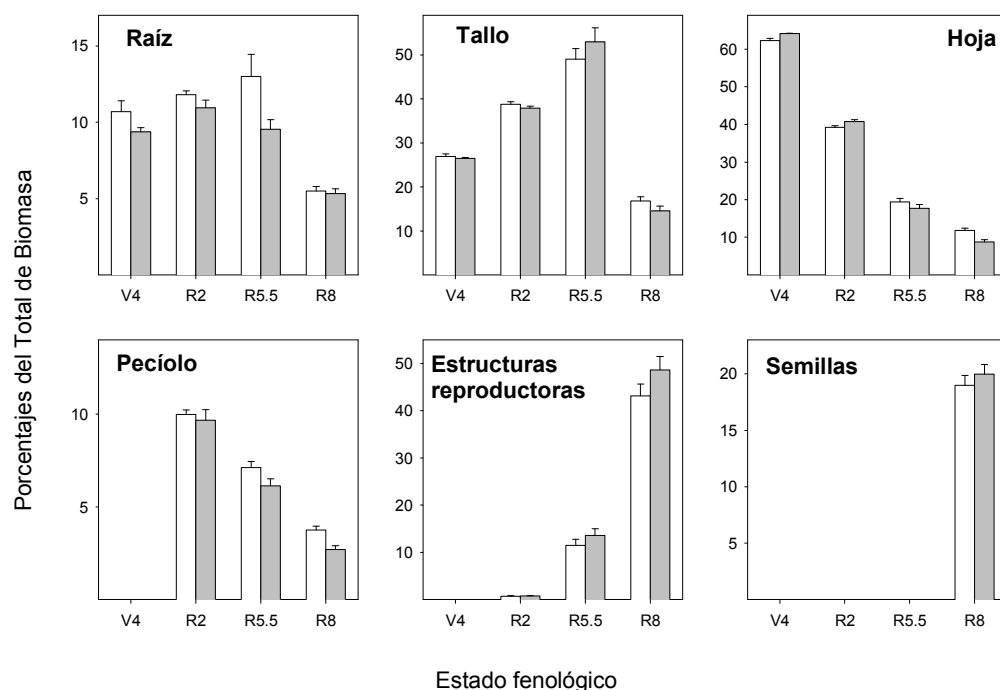
**Figura 8.5.** Variación temporal de las tasas de asimilación neta (NAR) y razón de peso foliar (LWR), en plantas de girasol (O) y afectadas por el vertido (●).

Las tasas medias de razón de peso foliar (LWR) descendieron de forma progresiva a lo largo del ciclo de vida de la planta, ya que este parámetro se considera como un índice de la cantidad de recursos que puede derivar una planta hacia órganos potencialmente fotosintetizadores (Hunt, 1990). Al no obtenerse diferencias de LWR entre las plantas control y afectadas en ninguno de los tres intervalos estudiados (Fig. 8.5), parece que la presencia de metales pesados y As

en las plantas afectadas no ha afectado a la proporción de recursos invertidos en las hojas.

### 8.4.3. *Alocación de biomasa*

La Figura 8.6 representa la variación temporal de alocación de biomasa relativa a cada estructura y órgano, para los dos condiciones de cultivo, parcela control (cuyos suelos no fueron afectados) y parcela cuyos suelos fueron afectados por el vertido, y por tanto son más ricos en elementos traza.



**Figura 8.6.** Variación temporal de la alocación relativa de biomasa (media  $\pm$  error estándar) en distintas fracciones de la planta del girasol control (en blanco) y en plantas de girasol afectadas por el vertido (en gris).

La alocación de biomasa en las raíces alcanzó su máximo valor en el tercer estado de desarrollo estudiado (R5.5), alcanzando un 14 % del total de la biomasa en la parcela control. Tras esta fase, la tendencia de alocación de biomasa radical

fue la de disminuir, alcanzándose los porcentajes más bajos durante la madurez de la planta (R8), próximos al 6 %. En general, los porcentajes fueron ligeramente más altos en la parcela control, aunque las diferencias nunca fueron significativas (Fig. 8.6).

El comportamiento de la fracción tallo consistió en un aumento progresivo de su contribución a la biomasa, necesario para su sostén, y un brusco descenso en la madurez, coincidiendo con el aumento de las estructuras reproductoras de la planta. Las diferencias entre parcelas fueron todavía menores para esta fracción que las registradas en el caso de las raíces.

Hojas y pecíolos experimentaron un descenso generalizado en su contribución a la biomasa. En el caso de las hojas, desde valores próximos a 60 % en la fase V4 hasta niveles cercanos al 10 % durante la madurez (R5.5, Fig. 8.6); tanto en un caso como en otro, las diferencias entre parcelas no resultaron significativas.

La contribución del botón floral a la biomasa durante el estado R2 (primer estado reproductor estudiado en este trabajo) fue todavía muy pequeño, 0,5 % en ambas parcelas. Durante la madurez (estado R8 en este trabajo), la estructura reproductora alcanzó valores muy altos, cercanos al 50 % (Fig. 8.6).

## **8.5 ALOCACIÓN DE NITRÓGENO Y ELEMENTOS MINERALES**

La biomasa es un recurso crucial que la planta distribuye entre los diferentes órganos. Estudios comparativos entre alocación de biomasa y energía han demostrado la equivalencia entre ellos y la posibilidad de relacionarlos (Hickman y Pitelka, 1975). Otros estudios, centrados en la formación de estructuras reproductoras, han considerado también crucial la alocación de los elementos minerales, incluso más que la de la propia biomasa y energía. Abrahamson y Caswell (1982) enumeraron las circunstancias que apoyan esta hipótesis de la siguiente forma: 1) a menudo las plantas están en hábitats con limitación de nutrientes, 2) la reproducción está ligada a la adquisición de nutrientes y 3) durante el desarrollo, se producen movimientos dinámicos de nutrientes dentro de las plantas.

Con el objeto de estudiar los datos relativos a la alocación de biomasa y elementos minerales, estos autores expresaron los resultados como la proporción de los distintos elementos relativa a la biomasa de cada una de las fracciones de

las plantas estudiadas. De esta forma, un cociente igual a uno, en cualquier órgano, indicaría que la alocación del elemento estudiado es idéntica a la de la biomasa, mientras que valores inferiores a uno indicarían dilución, y mayores a uno concentración.

Los elementos minerales casi nunca están presentes en la solución del suelo en las proporciones adecuadas para la nutrición de la planta, y rara vez están disponibles en cantidades suficientes. A su vez, los requerimientos de las distintas plantas respecto a cada uno de los elementos son muy distintos, lo que explica la presencia de determinadas especies en hábitats donde otras más exigentes no podrían vivir.

La absorción de nutrientes y su respectiva alocación están determinadas por la disponibilidad de recursos en el suelo, la distinta demanda que hacen de ellos las plantas, y las características morfológicas de las mismas. Además, a lo largo del desarrollo de las plantas tienen lugar cambios en los requerimientos minerales, siendo distribuidos independientemente unos de otros en los diferentes órganos según modelos que varían para las diferentes especies y condiciones ambientales (Abrahamson y Caswell, 1982; Benner y Bazzaz, 1988; Poorter y Nagel, 2000). La comparación entre dos suelos con contenidos muy distintos de elementos traza puede permitirnos analizar la repuesta de una misma planta ante cada situación, discerniendo, según su alocación, entre aquellos elementos que no son necesarios, o sólo los que lo son en pequeñas cantidades.

En este apartado sólo se van a presentar las alocaciones de N y elementos minerales correspondientes a las fracciones raíz, hojas (limbo), estructuras reproductoras y semillas. Entre los nutrientes se han seleccionado N y P, por su importancia fisiológica, los micronutrientes Cu y Zn por su importancia fisiológica y abundancia en el vertido, y los elementos traza As y Cd por esta última razón, además de por su toxicidad.

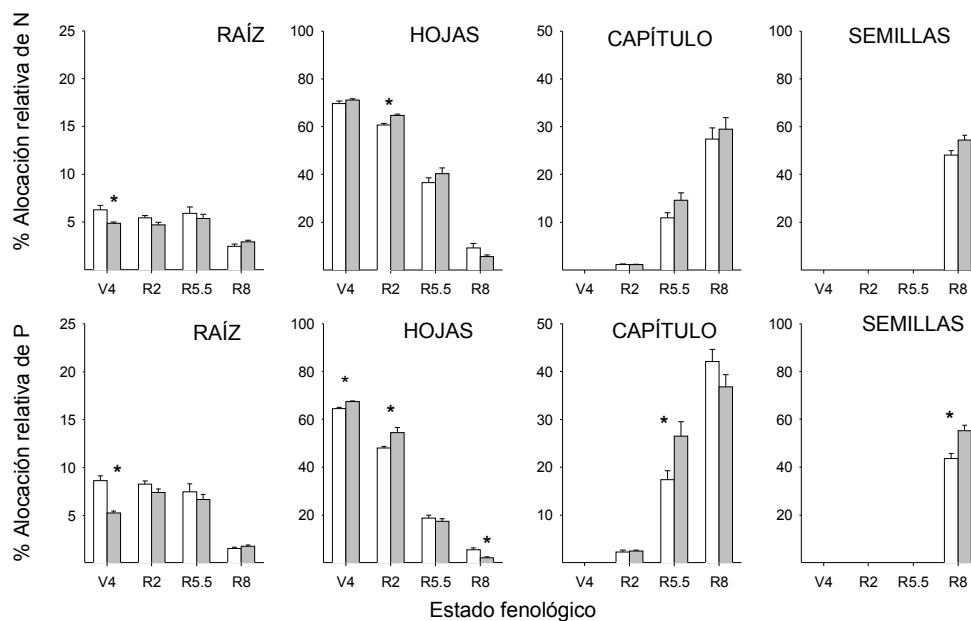
Información detallada sobre las concentraciones de macronutrientes, micronutrientes y elementos traza alcanzados por el girasol durante la fase reproductiva puede encontrarse en Murillo *et al.* (1999) y en Madejón *et al.* (2003) en las fases vegetativa (V4) y reproductora (R8).

### 8.5.1. Alorcación y concentración de elementos minerales

Estos valores han sido calculados como el porcentaje del contenido de cada elemento en cada fracción, en relación a contenido total de dicho elemento en la planta completa.

#### 8.5.1.1. Macronutrientes: N y P

Durante los tres primeros estados (V4 a R5.5) la alorcación relativa de N y P en la raíz resultó ligeramente superior en las plantas no afectadas por el vertido, especialmente en el estado V4, en el que las diferencias resultaron significativas (Fig. 8.7), coincidiendo con la mayor sensibilidad de la joven radícula a la presencia de elementos traza, comentada con anterioridad. En ambos casos, la alorcación fue del orden de 1,5 veces superior en las plantas no afectadas.



**Figura 8.7.** Variación temporal de la alorcación relativa de los nutrientes N y P (valores medios  $\pm$  error estándar) en las distintas fracciones de girasol cultivado en condiciones control (barras blancas) y afectado por el vertido (barras grises). Diferencias significativas entre parcelas se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

Los porcentajes de aloación de N y P se mantuvieron razonablemente similares durante este período (V4 a R5.5) para descender bruscamente en la madurez (R8) hasta valores próximos a 2,5 % para el N (entre 4-6 % en los estados anteriores) y 1,5 % para el P (entre 6-9 % en los estados anteriores).

En las hojas (limbos) se obtuvo una aloación de N y P comparativamente alta durante los dos primeros estados, especialmente V4 (alrededor del 70% para el N y 65 % para el P) coincidiendo con un período de intensa adquisición de nutrientes por parte de la planta y acumulación en los órganos fotosintéticamente activos.

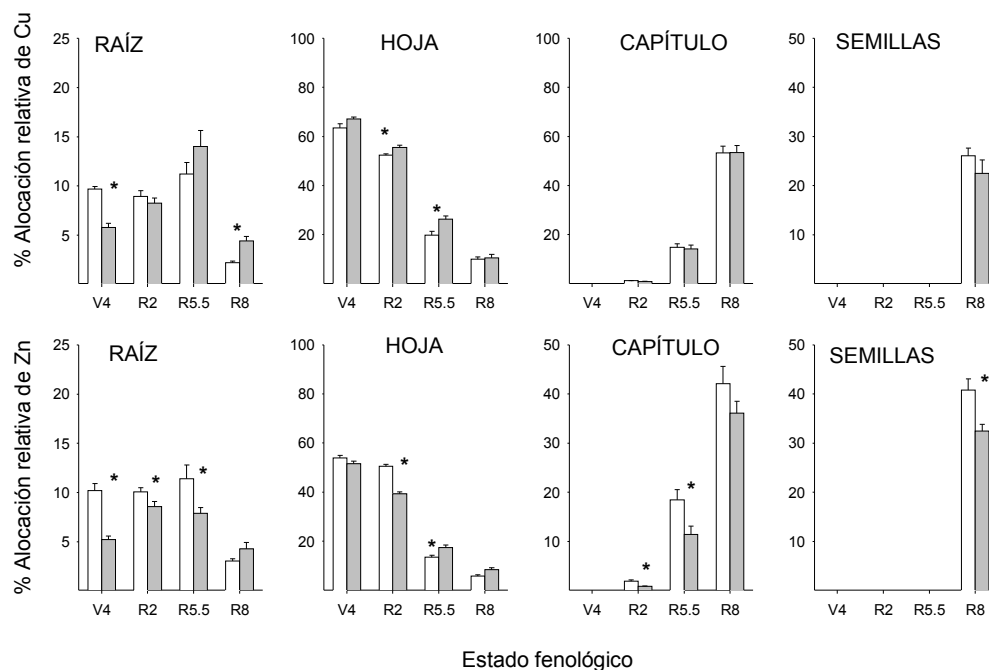
El patrón de acumulación de N y P en los limbos fue opuesto al observado para la raíz, esto es, porcentajes ligeramente superiores en las plantas afectadas por el vertido durante los tres primeros estados estudiados (V4 a R5.5; a R2 en el caso del P) con diferencias significativas para el N en R2 y para el P en V4 y R2. La diferencia también resultó significativa en el estado R8 para el P, aunque siempre mayor, en este caso, en las plantas no afectadas (Fig. 8.7).

En el caso de la raíz pudo verse afectada la disponibilidad de ambos nutrientes básicos, en la parcela afectada especialmente durante las fases iniciales de su crecimiento, aunque no parece que el transporte hacia la hoja haya experimentado variaciones de importancia en función del nivel de contaminación del suelo. Las diferencias encontradas en las hojas también pudieron estar influenciadas por diferencias de crecimiento de las mismas, aunque durante la madurez también pudo influir una translocación de N y P hacia los órganos reproductores (en especial a las semillas), algo más intensa en las plantas afectadas por el vertido (mayores valores de aloación de N y P que en las plantas no afectadas en el estado R8).

En las fracciones reproductoras (capítulo y semillas) se observó, en general, una clara tendencia hacia mayores porcentajes de aloación de N y P en las plantas afectadas por el vertido (excepto para el P del capítulo en el estado R8, aunque la diferencia no resultó significativa, Fig. 8.7), circunstancia que unida a la mayor aloación de biomasa (apartado 8.4) no hace más que corroborar el mayor esfuerzo "inversor" de recursos efectuado por estas plantas para asegurar su continuidad ante la situación de estrés creada por la presencia de elementos traza.

### 8.5.1.2. Micronutrientes: Cu y Zn

La asignación relativa de Cu y Zn en la raíz tuvo el mismo patrón que la de N y P, con diferencias entre parcelas más acusadas, incluso, que en el caso de estos últimos nutrientes (Fig. 8.8). Durante el período vegetativo (V4), la asignación de Cu y Zn fue mucho mayor en la raíz de las plantas no afectadas por el vertido (en ambos casos, la diferencia respecto a las afectadas fue significativa).



**Figura 8.8.** Variación temporal de la asignación relativa de los micronutrientes Cu y Zn (valores medios  $\pm$  error estándar) en las distintas fracciones del girasol cultivado en condiciones control (barras blancas) y afectados por el vertido (barras grises). Diferencias significativas entre parcelas se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

Posteriormente, las diferencias entre parcelas fueron menores, aunque todavía significativas en el caso del Zn durante las fases R2 y R5.5 (Fig. 8.8). En el caso del Cu, la asignación ya resultó mayor en las plantas afectadas en los estados R5 y R8 (en esta última fase también fue mayor la de Zn en las plantas afectadas).

En conjunto, los resultados parecen indicar que ante la situación de estrés originada por la presencia de elementos traza, la planta tiende a acumular preferentemente Cu en sus raíces, respecto al Zn, debido posiblemente a que una vez absorbido, el primero tiene menor movilidad en el interior de la planta (Greger, 1999), al margen de que pudiera resultar más fitotóxico a nivel de hoja.

Las diferencias de alocaación de Cu y Zn en las hojas (limbos) de las plantas afectadas y no afectadas fueron mucho menores que en la raíz, aunque en ocasiones resultaron significativas, especialmente en el caso del Zn. El comportamiento de ambos micronutrientes siguió un comportamiento similar al de N y P, disminuyendo considerablemente en las dos últimas fases analizadas (R5.5 y R8, Fig. 8.8). La alocaación de Cu, y la de Zn, en las dos últimas fases estudiadas, resultó ligeramente más alta en las plantas afectadas por el vertido, aunque las diferencias, respecto a las plantas no afectadas, no parece que tuvieran una base fisiológica de importancia.

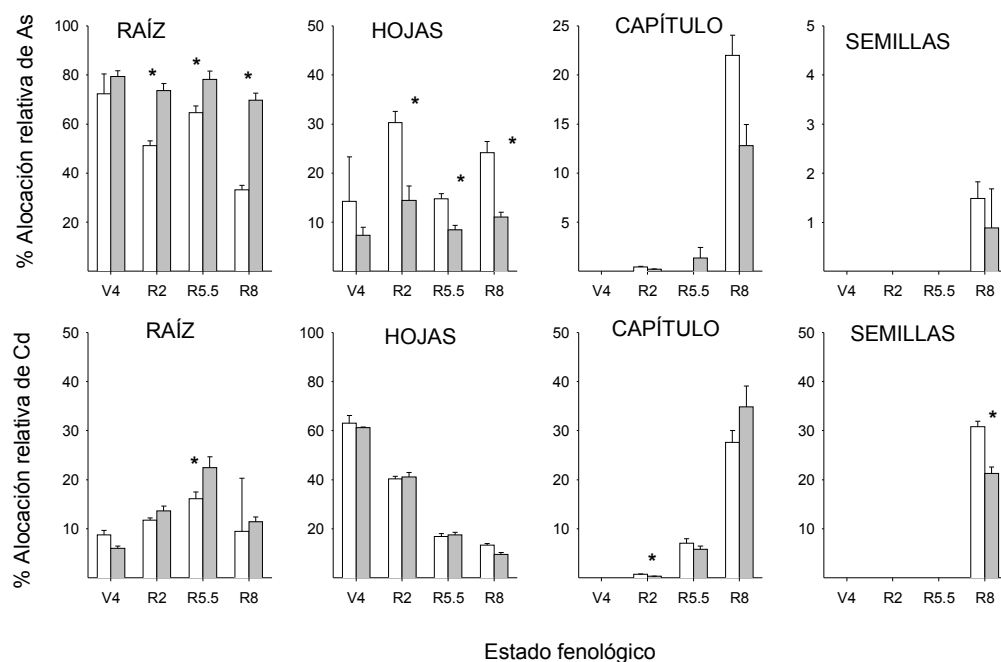
En el capítulo y semillas la alocaación de Cu y Zn tendió a ser mayor en las plantas no afectadas por el vertido, especialmente la de Zn, cuyas diferencias con las plantas afectadas resultaron significativas, excepto para el capítulo durante el estado R8 (Fig. 8.8). Este comportamiento contrasta con el observado para N y P, cuya alocaación tendía a ser mayor en las estructuras reproductoras de las plantas afectadas (Fig. 8.8). Ante la situación de estrés ocasionada por el vertido, las plantas pudieron efectuar una mayor inversión en elementos básicos (N y P) para sus estructuras reproductoras, en comparación con otros nutrientes, como Cu y Zn, menos necesarios cuantitativamente y fitotóxicos en concentraciones altas.

#### 8.5.1.3. Elementos traza: As y Cd

La alocaación relativa de As en la raíz, a diferencia de otros elementos analizados, se mantuvo prácticamente constante en las plantas afectadas durante todo el ciclo, en las que alcanzó niveles comparativamente altos (próximo a 80 %, Fig. 8.9).

Las diferencias respecto a las plantas no afectadas (controles), en las que se alcanzaron valores de alocaación más bajos, resultaron significativos durante todo el ciclo reproductor (R2 a R8). En estas plantas sí se observó un descenso claro en la última fase estudiada (R8, Fig. 8.9).





**Figura 8.9.** Variación temporal de la alotación relativa de los elementos traza As y Cd (valores medios  $\pm$  error estándar) en las distintas fracciones del girasol cultivado en condiciones control (barras blancas) y afectado por el vertido (barras grises). Diferencias significativas entre parcelas se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

En el caso del Cd, los niveles de alotación en raíz fueron más bajos (entre 10% y 20%), apreciándose también cierta tendencia hacia una mayor alotación radical en las plantas afectadas, aunque mucho menos acusada que en el caso del As (Fig. 8.9). En este caso, la diferencia sólo fue significativa en la fase R5; en los estadios restantes los valores de alotación fueron prácticamente iguales en ambos grupos de plantas.

El As es un elemento más fitotóxico que el Cd, y de más difícil absorción y translocación (Wagner, 1993; Smith *et al.*, 1998). Por otra parte, las plantas superiores soportan concentraciones comparativamente altas de Cd en sus tejidos, elemento que toman, y transportan, con cierta facilidad, convirtiéndose entonces en agente potencialmente tóxico para el resto de componentes de la red trófica, para los que sí es tóxico.

Se explica así que las plantas de girasol, como otras muchas especies, hayan presentado una alocaión preferencial de As en raíz, que explicaría a su vez su menor alocaión a nivel de hojas y estructuras reproductoras, especialmente en las plantas afectadas por el vertido, en los que los niveles de alocaión de As en hojas y capítulo no fueron más allá del 15 %, y del 1 % en las semillas (Fig. 8.9).

En las hojas, la mayor alocaión de As en las plantas no afectadas resultó significativamente mayor durante todo el período reproductor; durante el período vegetativo estudiado (V4), la alocaión también fue mayor en las plantas control, aunque la diferencia no resultó significativa (Fig. 8.9). Por el contrario, la alocaión de Cd en las hojas fue prácticamente igual en las plantas afectadas y no afectadas, obedeciendo a la facilidad de transporte, y baja toxicidad de este elemento, antes comentado.

En las hojas, también contrasta el patrón evolutivo de ambos elementos, claramente descendente en el caso del Cd, fruto de una consistente absorción y transporte durante la fase de plántula, y más irregular en el caso del As (comparativamente menos definido).

En las estructuras reproductoras, la alocaión de As fue mayor en las plantas no afectadas por el vertido (excepto en R5), aunque las diferencias respecto a las plantas afectadas nunca fueron significativas. Por el contrario, en el caso del Cd no se observó esta tendencia tan clara (en el estado R8 la alocaión fue incluso mayor en las plantas afectadas, a nivel del capítulo), aunque sí a nivel de semilla, siendo en este caso significativa la diferencia (Fig. 8.9).

Por consiguiente, puede afirmarse que las plantas de girasol tienden a preservar sus semillas de la acción de ambos elementos, independientemente de su diferente fitotoxicidad. Además, ninguno de los dos elementos es necesario para el desarrollo del futuro embrión.

#### **8.5.2. Alocaión relativa a la biomasa**

Mediante esta razón se compara la alocaión de nutrientes y elementos traza con la alocaión de biomasa, en distintos órganos de la planta. En función del órgano, elemento y estado de desarrollo de la planta pueden producirse importantes cambios cuantitativos de alocaión, pudiendo tender los elementos a su acumulación, dilución o a mantenerse en equilibrio con la biomasa.

Se muestran a continuación las variaciones temporales de alocaación relativa a biomasa (ARB) para los elementos estudiados, en cada una de las fracciones consideradas en las plantas de girasol.

#### 8.5.2.1. Macronutrientes: N y P

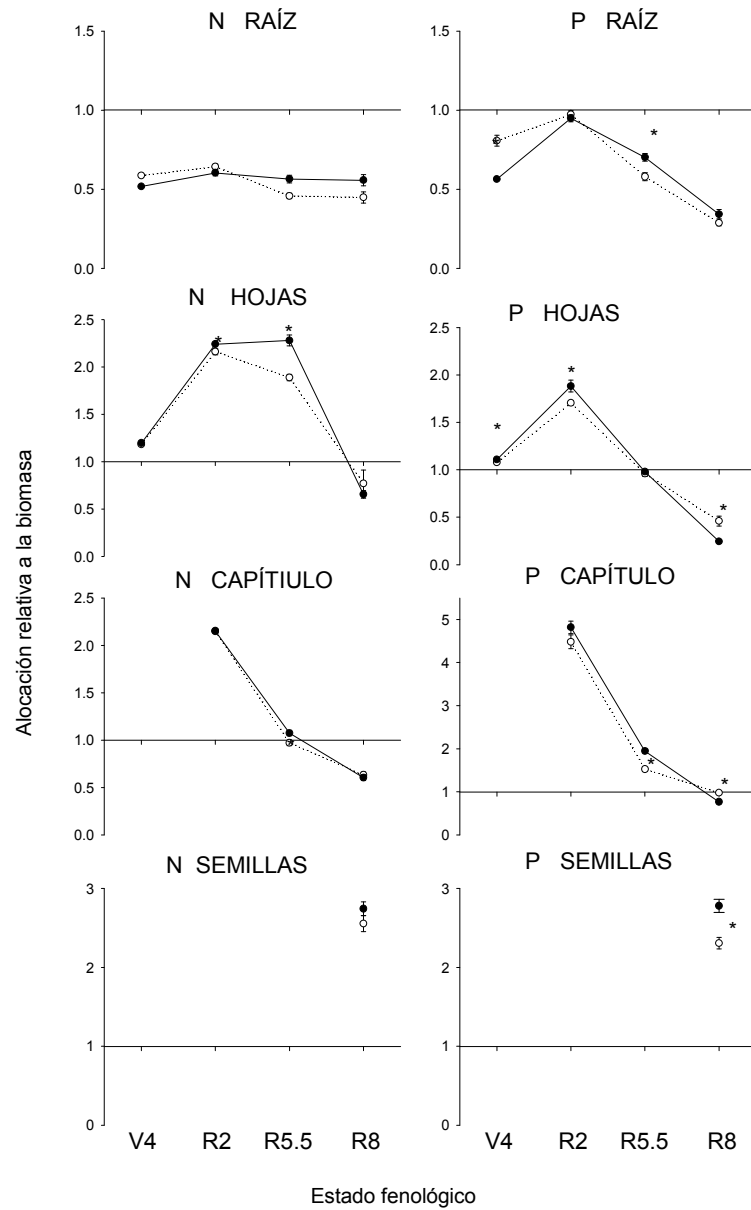
Los valores de ARB para N y P en raíz fueron en general  $< 1$  a lo largo de todo el ciclo de vida de las plantas, tanto afectadas como no afectadas por el vertido (Fig. 8.10). Esta circunstancia obedecía a la dilución del nutriente en este órgano, consecuencia posiblemente de su movilización hacia la parte aérea.

Durante el período vegetativo estudiado (V4), la dilución de ambos nutrientes fue algo mayor en las raíces de las plantas afectadas; esta circunstancia podría estar relacionada, al menos en parte, con una mayor limitación de la absorción, ante la presencia de elementos traza (menor crecimiento radical y, consecuentemente, menor capacidad de “exploración” del suelo). Esta limitación afectaría más al P (elemento menos disponible que el N, dependiente, a su vez, de la presencia de micorrizas para su absorción por muchas plantas) que al N (Fig. 8.10).

Durante los últimos estadios (período reproductor R5.5 y R8), la dilución por el contrario, fue algo mayor en las plantas no afectadas, aunque siempre alrededor de 0,5 para el N, y para el P durante la fase R5.5.

En las hojas, por el contrario, ambos elementos tendieron a acumularse durante el período vegetativo y estado reproductor R2 (Fig. 8.10), en el que salvo para el N y plantas afectadas, se alcanzaron los máximos valores de ARB, coincidiendo con la intensa actividad metabólica desarrollada en estos órganos durante todo el período vegetativo y fases iniciales del período reproductor. En el caso del N, el máximo valor de ARB fue alcanzado por las plantas afectadas durante el estado R5.5.

Posteriormente (estados R5.5 y R8, con la excepción ya indicada para el N), los valores de ARB de N y P comenzaron a descender, hasta producirse su dilución en el estado R8, coincidiendo con la ausencia de actividad metabólica en la mayoría de las hojas. Cabe destacar que los valores más altos de ARB correspondieron a las plantas afectadas, quizás como medida de defensa (maquinaria de detoxificación) ante las condiciones adversas del medio; resultados similares fueron obtenidos por Romero y Marañón (1996) en plantas de *Melilotus segetalis* sometidas a estrés salino.



**Figura 8.10.** Variación temporal de la alocación relativa de biomasa de los nutrientes N y P (valores medios  $\pm$  error estándar) en las distintas fracciones de girasol cultivado en condiciones control (○) y afectado por el vertido (●). Diferencias significativas entre parcelas se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

En el capítulo se produjo una fuerte acumulación inicial (estado R2) de N y especialmente de P (valores de ARB de 2,2 y 4,5 respectivamente), debido posiblemente a la intensa retranslocación de elementos básicos requerida para la formación de las estructuras reproductoras. Posteriormente se produjo un fuerte descenso en la alocación relativa a biomasa en ambos nutrientes, alcanzándose el equilibrio entre ambos parámetros (biomasa y nutriente) durante la fase R5.5 para el N y R8 para el P (Fig. 8.10).

El fuerte descenso de los valores ARB en el capítulo, hasta el equilibrio (P) o dilución (N) en el estado R8, coincidió con una importante acumulación de ambos nutrientes en las semillas. En el capítulo se alcanzaron valores ARB más altos en las plantas afectadas, especialmente de P, elemento para el que la diferencia resultó significativa (Fig. 8.10).

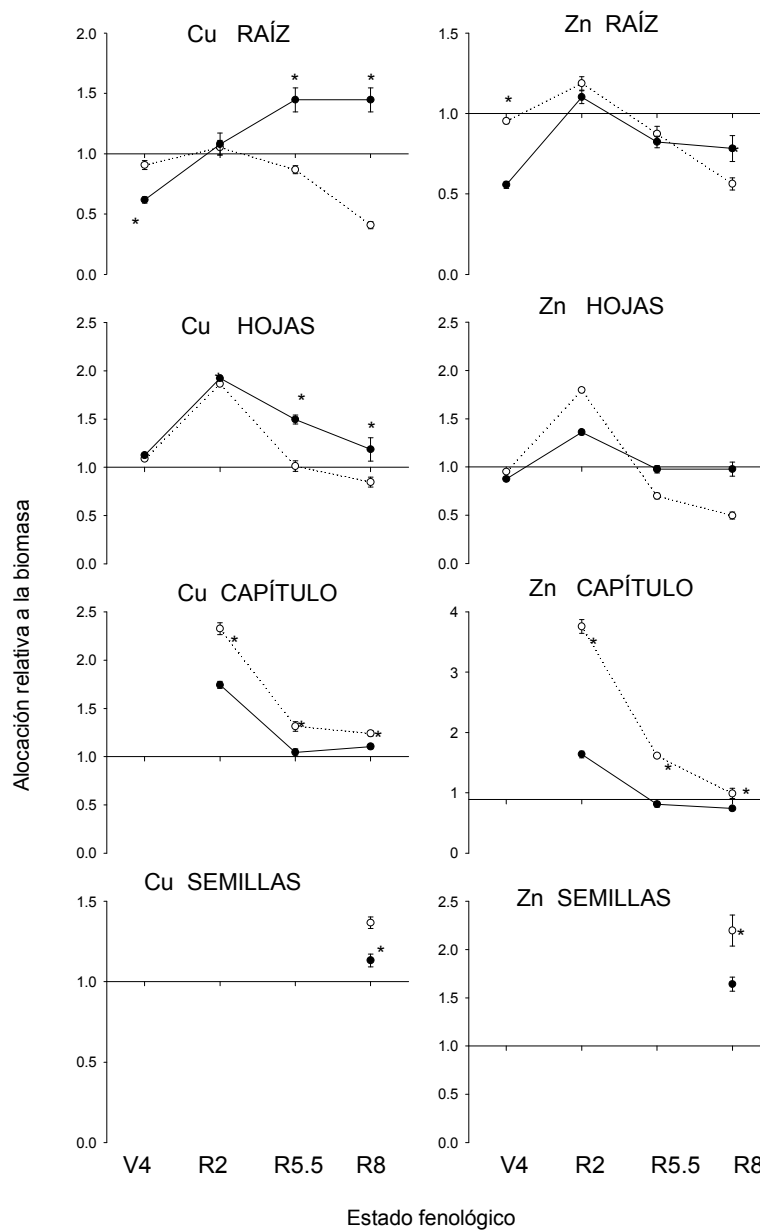
Esta acumulación mayor de P en las semillas afectadas pudo ser la causa de la ligera, pero significativa diferencia registrada en el capítulo durante esta fase (R8); mientras en las plantas control se alcanzó el equilibrio ( $ARB = 1$ ) en las afectadas se registró una ligera dilución, fruto tal vez de un transporte más intenso hacia las semillas.

Los valores ARB más altos en las semillas de las plantas afectadas (y en ocasiones también en el capítulo), pudieron obedecer a un mecanismo de defensa de las propias plantas, destinado a asegurar la producción de semillas, ante síntomas de estrés. Este mecanismo permitiría una adecuada reserva de nutrientes básicos necesarios para el desarrollo posterior de la semilla.

#### 8.5.2.2. Micronutrientes: Cu y Zn

Los micronutrientes Cu y Zn presentaron un comportamiento diferente, debido posiblemente a su distinto nivel de fitotoxicidad, al ser más tóxico el primero.

En las raíces de las plantas no afectadas (Fig. 8.11) los valores de ARB para Cu y Zn se mantuvieron próximos al equilibrio durante el período vegetativo (V4), mientras que en las plantas afectadas experimentaron una "dilución", a pesar de su mayor riqueza en el suelo. Como en el caso del N, el menor crecimiento radical ocasionado por la presencia de elementos traza pudo limitar la absorción de determinados nutrientes, impidiendo así su acumulación inicial.



**Figura 8.11.** Variación temporal de la alocación relativa de biomasa de los micronutrientes Cu y Zn (valores medios  $\pm$  error estándar) en las distintas fracciones de girasol cultivado en condiciones control (○) y afectado por el vertido (●). Diferencias significativas entre parcelas se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

Posteriormente (estado R2), los valores de Cu se mantuvieron próximos al equilibrio, experimentando cierta acumulación los de Zn (Fig. 8.11), aunque en períodos sucesivos (estados R5.5 y R8) experimentaron una dilución, algo más acusada en las plantas control durante la madurez. El Cu de las plantas control tuvo un comportamiento prácticamente idéntico al del Zn (Fig. 8.11). Sin embargo, en las plantas afectadas por el vertido, el Cu continuó acumulándose en la raíz durante toda la fase reproductora. Esto hace pensar que ante su mayor toxicidad, la planta lo retuvo preferentemente en el sistema radical (secuestro activo), evitando su transporte generalizado hacia los órganos fotosintéticamente activos.

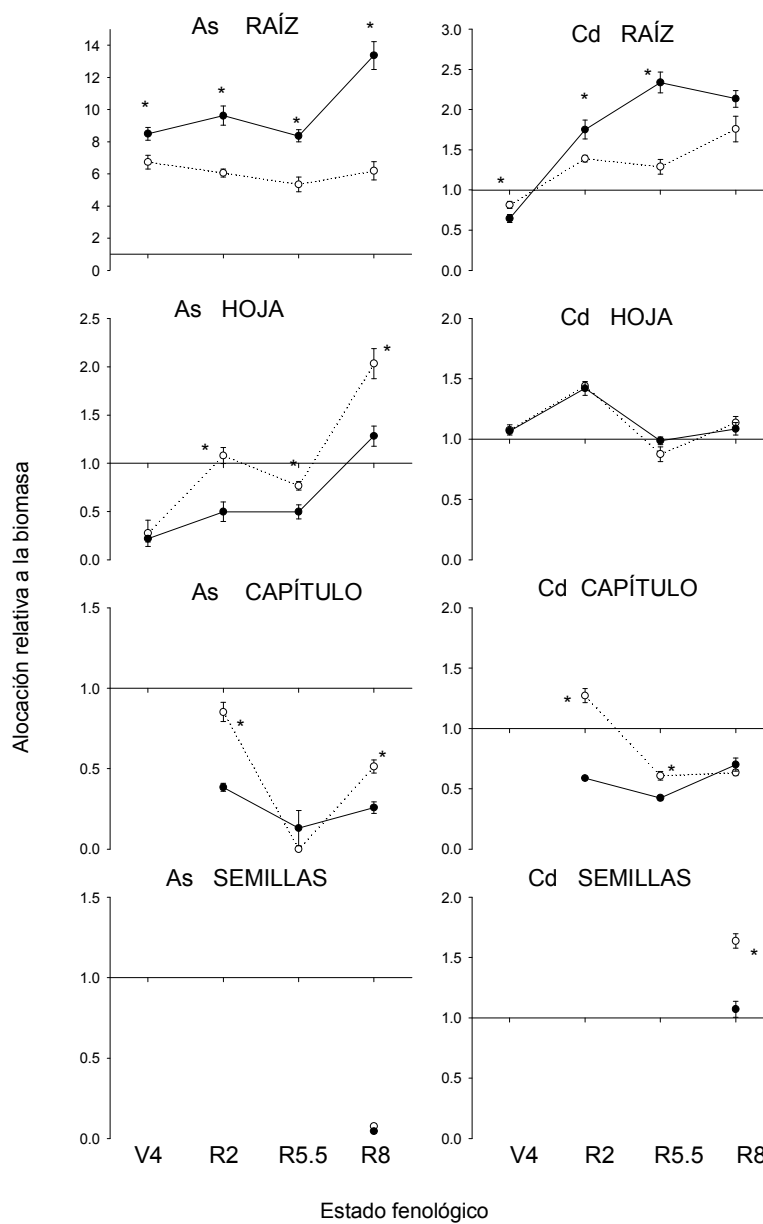
Esta retención de Cu a nivel de la raíz (y a nivel de la hoja, según se discute a continuación) pudo estar facilitado por el hecho de que se trata de un elemento que presenta una baja movilidad dentro de la planta (menor que la del Zn), y que, además, tiende a permanecer preferentemente en las raíces y hojas senescentes (Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

Efectivamente, parte del Cu absorbido por las raíces de las plantas afectadas llegó a las hojas, donde se acumuló, aunque esta acumulación disminuyó progresivamente desde el estado R2 a R8. Comparativamente, la acumulación de Cu en la hoja fue más alta que la de Zn, elemento que se mantuvo prácticamente en equilibrio durante los estados R5.5 y R8 en las plantas afectadas, diluyéndose en las no afectadas (Fig. 8.11).

En el capítulo y semillas, la acumulación del Cu y Zn fue siempre más baja, significativamente, en las plantas afectadas por el vertido, contrariamente a lo que sucediera en el caso de N y P. Cabe pensar que igual que la planta asegura una acumulación suficiente de nutrientes básicos en la semilla, evita por el contrario la acumulación excesiva de elementos traza que puedan dañar el desarrollo del futuro embrión.

#### 8.5.2.3. Elementos traza: As y Cd

Los elementos traza As y Cd no tienen ninguna función específica en los tejidos vegetales, resultando fitotóxicos cuando su concentración alcanza determinados niveles, fitotoxicidad que puede variar en función de la sensibilidad de las distintas especies, y ecotipos vegetales. Por consiguiente, no es extraño que muchas plantas tiendan a acumularlos en sus raíces, una vez absorbidos, evitando así su llegada a los órganos fotosintéticos.



**Figura 8.12.** Variación temporal de la alocación relativa a la biomasa de los elementos traza As y Cd (valores medios  $\pm$  error estándar) en las distintas fracciones de girasol cultivado en condiciones control (○) y afectado por el vertido (●). Diferencias significativas entre parcelas se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).



Este es el caso del girasol, según se muestra en la Fig. 8.12, donde puede comprobarse cómo la alocaión relativa a la biomasa de ambos elementos resultó muy superior a uno en la raíz, tanto en las plantas afectadas como no afectadas, puesto que no son elementos necesarios.

Los valores ARB en la raíz fueron especialmente altos en el caso del As y plantas afectadas, donde se alcanzó un valor próximo a 14 durante la madurez (R8). Las diferencias respecto a las plantas no afectadas siempre fueron significativas (Fig. 8.12).

Así se explica que tanto en las hojas, como en el capítulo y semillas, el patrón de alocaión fuese, en general, opuesto, esto es, valores de ARB mayores en las plantas no afectadas, con diferencias significativas en ocasiones. Se trata del mecanismo de defensa, ya mencionado, con que cuenta la planta para evitar el acceso generalizado de elementos tóxicos a partes vitales de la misma. Cabe destacar la fuerte dilución experimentada por el As en las semillas tanto de plantas afectadas como de las no afectadas (Fig. 8.12). También se produjo una clara dilución del elemento en el capítulo de ambos grupos de plantas y en las hojas de las plantas no afectadas.

El Cd tuvo un comportamiento similar al del As, aunque con diferencias, especialmente a nivel de hoja y semilla. En las hojas de las plantas no afectadas no se observó el proceso de dilución ocurrido para el As durante los estados V4, R2 y R5.5, y tampoco en el caso de las semillas, donde incluso se produjo una notable concentración de elementos en el caso de las plantas no afectadas (controles).

El girasol tiende a acumular más Cd que otros cultivos; en un estudio realizado sobre suelos no contaminados pudo comprobarse que sus semillas acumulan Cd en un intervalo de 310-1340  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , sobre materia seca (Blamey *et al.*, 1997). En nuestro caso, la concentración de Cd en las semillas de las plantas no afectadas (130  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) y afectadas (239  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) fue menor al límite inferior de este intervalo. A pesar de que en las plantas afectadas la concentración fue más alta, su alocaión respecto a la biomasa fue menor ( $p < 0,05$ ), lo que indica una posible respuesta de defensa de la planta (exclusión activa) ante la situación estrés debido a la presencia de elementos traza.

## 8.6 ABSORCIÓN Y UTILIZACIÓN DE NUTRIENTES Y ELEMENTOS TRAZA

La tasa de absorción específica fue denominada inicialmente como "tasa de absorción" ("*rate of intake*", Williams, 1948); posteriormente, Welbank (1962) la definió como "tasa de absorción específica" (*specific absorption rate*, SAR) y representa un índice de la eficacia de las raíces para absorber nutrientes (absorción por unidad de biomasa radical).

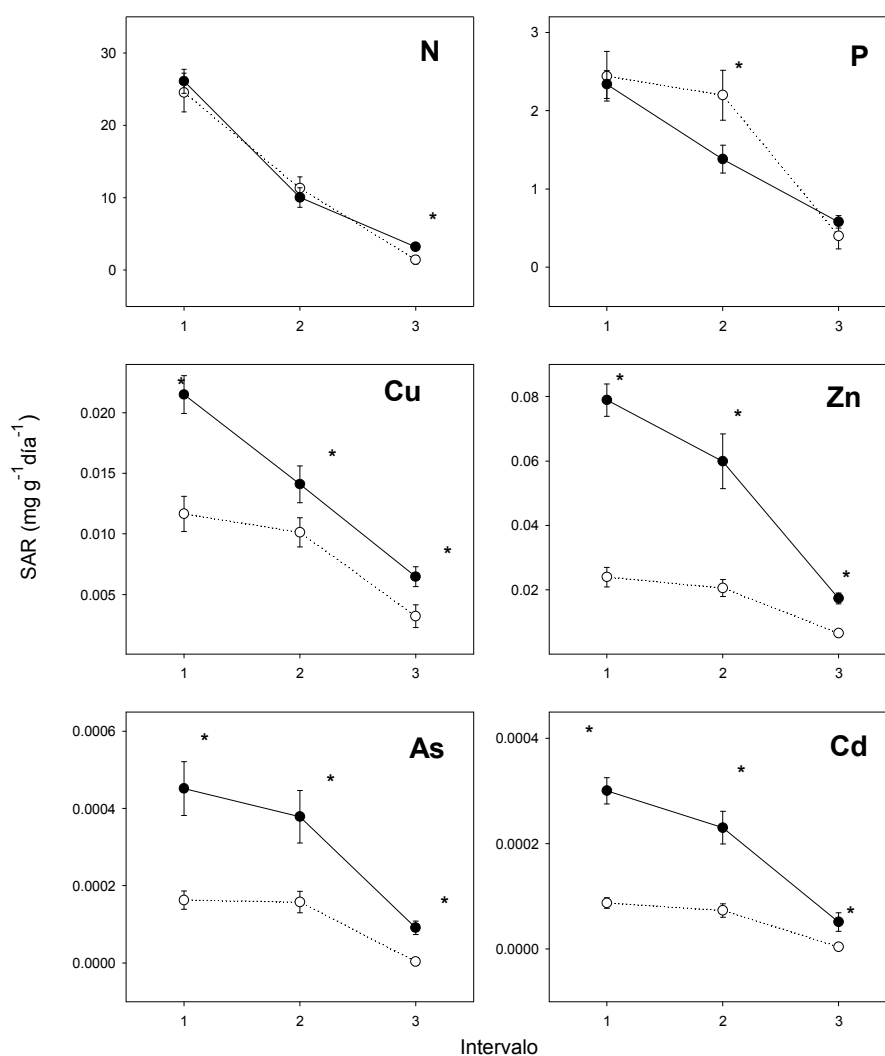
Se trata de un parámetro que debe ser tratado con suficiente cautela, puesto que pueden surgir problemas a la hora de adoptar la medida más adecuada del tamaño de la raíz (superficie, longitud, biomasa, número o volumen). Esta problemática fue discutida por Evans (1972). En este sentido, Hunt (1982) consideró que el parámetro SAR, calculado sobre la base del peso radical, es informativo durante el tiempo que la biomasa radical ( $R_w$ ) "pueda ser razonablemente considerada responsable" de la absorción de un determinado nutriente mineral ( $M$ ). En cualquier caso, el principal problema radica en determinar con exactitud qué fracción de raíces realiza la absorción del nutriente.

La tasa de utilización específica (*specific utilization rate*, SUR) es un índice de la eficacia con que la planta puede aumentar su biomasa en función de cada fracción mineral absorbida (Hunt, 1982). Este parámetro fue utilizado por primera vez por Keay *et al.* (1970), quienes sugirieron que el análisis de la utilización de los nutrientes por la planta podría realizarse en función del incremento de biomasa de una determinada fracción de la planta, pero como el SAR, es un parámetro que debe ser utilizado cuidadosamente, ya que la relación entre crecimiento y absorción no es rígida (Hunt, 1982).

En este estudio, la tasa de utilización específica (SUR) será utilizada en función del incremento de la biomasa foliar por unidad de elemento absorbido,  $SUR_L$  ( $g\ mg^{-1}día^{-1}$ ), parámetro de crecimiento más funcional, que el comúnmente usado SUR sobre biomasa total (Hunt, 1982).

### 8.6.1. Tasa de absorción específica

Como en el apartado anterior, se va a analizar el comportamiento de los nutrientes N y P y de los elementos traza Cu, Zn, As y Cd.



**Figura 8.13.** Variación temporal de la tasa de absorción específica de los elementos N, P, Cu, Zn, As y Cd para las plantas control (O) y afectadas por el vertido (●). Diferencias significativas entre parcelas se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

En general, las tasas medias de absorción disminuyeron con el tiempo para todos los elementos estudiados, ya que a medida que disminuye el crecimiento de la planta la absorción de la raíz va disminuyendo. Los valores más bajos de SAR correspondieron al último intervalo, una vez finalizado el crecimiento de la planta (Fig. 8.13).

En el caso del N, las tasas medias de absorción específica no resultaron más bajas en el caso de las plantas afectadas por el vertido. Durante el último intervalo (R5.5-R8), resultaron incluso ligeramente superiores a las obtenidas para las plantas no afectadas ( $3,2 \text{ mg g día}^{-1}$  frente a  $2,45 \text{ mg g día}^{-1}$  en las plantas control,  $P < 0,05$ ).

Se trata de resultados interesantes que ponen de manifiesto, una vez más, cómo las plantas afectadas por el vertido dispusieron de mecanismos suficientes para asegurar su funcionalidad ante la situación de estrés ocasionada por la presencia de elementos traza. Aunque esta circunstancia condicionase su crecimiento, e incluso la absorción y alocaión globales, la eficacia en la toma de N por unidad de peso radical de la planta no se vio afectada, asegurándose así un crecimiento razonable en los suelos afectados. En general, los mayores valores de SAR correspondieron al N (próximo a  $25 \text{ mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$  durante las primeras fases de crecimiento, concretamente en las plantas afectadas).

En el caso del P, los valores de SAR de las plantas afectadas tendieron a descender desde el primer intervalo al último (R.5.5-R.8), mientras que en las plantas no afectadas se mantuvieron, prácticamente, hasta el segundo intervalo (en el que resultaron mayores, significativamente, que la de las plantas afectadas). Esta menor eficacia inicial de las plantas afectadas para la toma de P puede estar relacionada con diversos factores del medio, como la posible acción competitiva del As sobre la absorción del P, o un potencial efecto negativo de los elementos traza sobre el desarrollo de micorrizas, importantes para la adquisición de este elemento por parte del girasol (Blamey *et al.*, 1997).

De los elementos traza estudiados, las tasas más altas de absorción específica correspondieron al Zn (hasta  $0,085 \text{ mg g día}^{-1}$  en los primeros estadíos, Fig. 8.13), seguidas por las de Cu ( $0,02 \text{ mg g día}^{-1}$ ). Las tasas de absorción de As y Cd fueron muchos más bajas (varios órdenes de magnitud), como corresponde a elementos que no tienen ninguna función específica en la planta y sí efectos tóxicos.

Las tasas de absorción específica correspondientes a estos cuatro elementos siempre fueron mayores en las plantas afectadas por el vertido, con diferencias significativas respecto a los controles (Fig. 8.13), fruto, posiblemente, de la mayor disponibilidad que tuvieron Cu, Zn, As y Cd en los suelos.

### **8.6.2. Tasa de utilización específica**

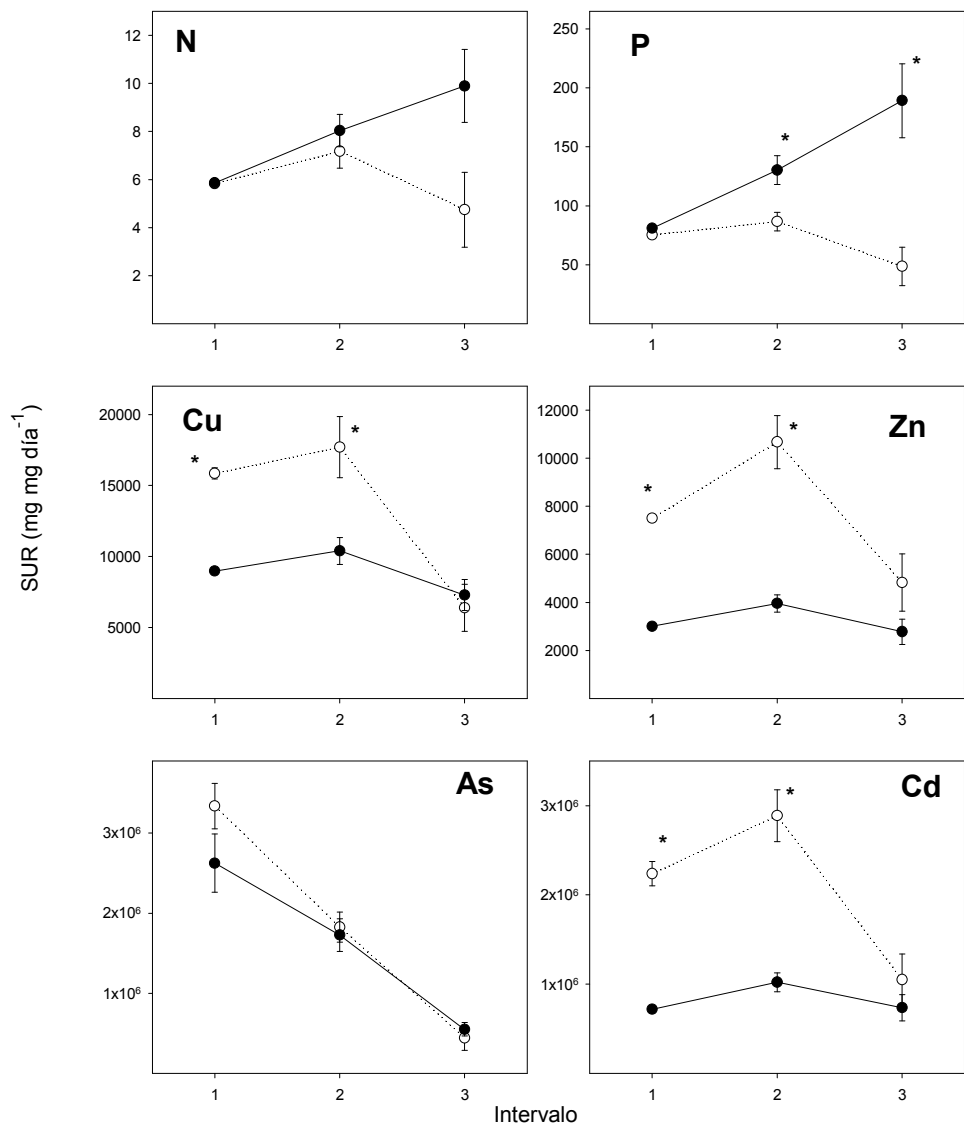
Según se indicó anteriormente, las tasas de utilización específica de nutrientes (SUR) reflejan la "eficacia productiva" de los mismos, esto es, su contribución al peso seco de la planta, siendo tanto mayor esta contribución cuanto menor resulte su relación (cociente) con la biomasa.

Los valores menores de SUR han correspondido al N, dada su importancia para el crecimiento, y fisiología, en general, de las plantas. También bajos, aunque en menor medida, resultaron los valores de SUR para el P, elemento igualmente básico para la fisiología y crecimiento de las plantas.

Cabe destacar el comportamiento diferente que experimentaron los valores de SUR en las plantas afectadas y no afectadas. Desde valores prácticamente iguales en ambos grupos (intervalo 1, Fig. 8.14), en las plantas afectadas se produjo un paulatino aumento de los mismos, alcanzándose los mayores valores durante las fases iniciales del período reproductor. Por el contrario, en las plantas no afectadas, se produjo un descenso notable de los valores SUR para N y P durante el mismo período (Fig. 5.13).

La aparente mayor "rentabilización" de N y P por parte de las plantas no afectadas (a nivel de la hoja), parece debido a que bajo la situación potencial de estrés originada por la presencia de elementos traza en las plantas afectadas, éstas disponen de mecanismos suficientes para asegurar su crecimiento, aunque no son tan "eficaces" en la utilización de nutrientes básicos, como las que no están sometidas a este estrés.

La menor necesidad que tienen las plantas de elementos como Cu y Zn, respecto a N y P, motivó la obtención de valores de SUR mucho mayores para ambos nutrientes (Fig. 8.14). En este caso, los valores de SUR resultaron mayores en las plantas no afectadas, con diferencias significativas en la mayoría de los casos. Esto podría ser debido a que cualquier exceso de elementos traza, en la planta afectada, debe ser convenientemente "compartimentado", sin que los elementos correspondientes intervengan de forma directa en el crecimiento.



**Figura 8.14.** Variación temporal de la tasa de utilización específica de los elementos N, P, Cu, Zn, As y Cd para las plantas control (○) y afectadas por el vertido (●). Diferencias significativas entre parcelas se indican mediante asterisco ( $p < 0,05$ ).

Esta circunstancia se observa todavía mejor en el caso del Cd, cuyos valores extremadamente altos (como los de As) denotan la nula necesidad que tienen las plantas de este elemento (en realidad no es una "tasa de utilización", sino un cociente biomasa elemento). Los valores mucho más bajos en las plantas afectadas podrían deberse a la acumulación del elemento (que debe ser debidamente compartimentado) sin influencia alguna sobre el crecimiento de la hoja. En el caso del As, cabe pensar que estas diferencias no se producen a nivel de la hoja (excepto en los estados iniciales del crecimiento) debido posiblemente a su acumulación preferencial a nivel de la raíz.

En conjunto, los resultados obtenidos en este capítulo demuestran que el girasol puede crecer razonablemente bien en suelos con un nivel de contaminación por elementos traza similar al que presentan los suelos utilizados en este ensayo.

Por consiguiente, teniendo en cuenta que se trata de una planta de crecimiento rápido, su utilización como planta estabilizadora de suelos contaminados podría resultar ventajosa, con el valor añadido que supondría la producción de aceite para fines industriales (no de consumo). Estos aspectos han sido tratados por Madejón *et al.* (2003).

El contenido medio de aceite de las pipas de las plantas que crecieron sobre los suelos contaminados (35,1 %) fue mayor que el de las pipas de las plantas control (32,9 %), siendo significativa la diferencia (Madejón *et al.*, 2003).

Además, las concentraciones de elementos traza de las primeras nunca alcanzaron niveles que pudieran considerarse peligrosos (por ejemplo,  $17 \mu\text{g kg}^{-1}$  de As,  $239 \mu\text{g kg}^{-1}$  de Cd,  $219 \mu\text{g kg}^{-1}$  de Pb y  $9 \mu\text{g kg}^{-1}$  de Tl ) para el consumo de aves. En general, la capacidad fitoextractora fue muy baja (por ejemplo, unos  $2 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$  de Zn,  $0,003 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$  de As y  $0,016 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$  de Cd), por lo que no parece aconsejable su utilización como planta fitoextractora (contemplada por otros autores: Van der Lelie *et al.*, 2001), al menos bajo las condiciones de nuestro estudio. Sería útil, según se ha indicado, para estabilizar el suelo con una cubierta vegetal, primer paso que debe darse para la recuperación de un suelo contaminado (Bargagli, 1998; Saxena *et al.*, 1999).

## 8.7. CONCLUSIONES

### *Crecimiento*

En general, el peso seco total de la planta de girasol fue menor en la parcela afectada por el vertido. El efecto negativo causado por la presencia de elementos traza sobre la producción de biomasa fue más acusado en las primeras fases del desarrollo (estado fenológico V4). Al analizar por separado los distintos órganos de la planta, se observó que su crecimiento fue menor en la parcela afectada, excepto en el caso del botón floral, lo que parece indicar que la planta realizó una mayor "inversión" de recursos en estructuras reproductoras ante el estrés ocasionado por la presencia de elementos traza.

Las tasas de crecimiento relativo (RGR), disminuyeron a lo largo del ciclo de vida de la planta, no apreciándose diferencias entre ambas parcelas, afectada y no afectada, salvo en la fase final del período reproductor. En este período se obtuvieron valores ligeramente más altos en la parcela afectada.

La tasa de producción de componentes (CPR) parece indicar que el girasol siguió inicialmente un patrón de crecimiento similar en ambas parcelas, aunque con diferencias durante la fase de formación de estructuras reproductoras, en la que se obtuvieron valores más altos para el capítulo en la parcela afectada por el vertido.

### *Alocación de biomasa*

En general, la alocación de biomasa correspondiente a la raíz y al tallo no presentó diferencias entre parcelas, con un aumento progresivo de alocación en los primeros estados de desarrollo de la planta, y brusco descenso durante la madurez (estado R8).

Hojas y pecíolos experimentaron un progresivo descenso, generalizado, en su contribución a la biomasa. Durante las fases finales de crecimiento, se obtuvieron mayores valores de alocación para ambas fracciones en la parcela no afectada, lo que pudo ser consecuencia de la acción progresiva de mayores concentraciones de elementos traza en estos tejidos, fotosintéticamente activos.



Por el contrario para las estructuras reproductoras se obtuvo un comportamiento opuesto, fruto, posiblemente, del mayor “esfuerzo reproductor” realizado por la planta en la parcela afectada, antes mencionado.

#### *Alocación de N y elementos minerales*

En las raíces, la absorción de N y P fue menor en las plantas afectadas por el vertido, especialmente durante las primeras fases del crecimiento (estado V4), fruto de la mayor sensibilidad de la joven radícula a la presencia de elementos traza. Por el contrario, en las hojas (limbos), no se registraron diferencias importantes entre plantas afectadas y no afectadas, lo que parece indicar que, al margen de diferencias de crecimiento y alocación de biomasa, el transporte de nutrientes básicos a los órganos fotosintéticos no se vio afectado por la presencia de elementos traza.

La alocación de N y P fue mayor en las estructuras reproductoras de las plantas afectadas por el vertido, lo que unido a la mayor alocación de biomasa correspondiente a estas fracciones, no hace más que corroborar la mayor inversión de recursos para su reproducción efectuada por estas plantas, ante una situación de estrés.

La alocación de Cu y Zn en la raíz siguió el mismo patrón que la de N y P, especialmente durante la fase juvenil (V4), en la que los valores de alocación fueron más altos en las plantas no afectadas. Por el contrario, en fases posteriores (estado R5.5 y R8), la absorción de Cu fue mayor en las raíces de las plantas afectadas, lo que parece indicar que ante la presencia de elementos traza, la planta tiende a acumular Cu en la raíz (secuestro activo), respecto al Zn, cuya distribución es más homogénea en toda la planta.

No se produjeron diferencias importantes de alocación en el limbo, pero sí en las estructuras reproductoras, en las que, contrariamente a lo ocurrido para N y P, la alocación de Cu y Zn fue menor, en general, en las plantas afectadas por el vertido.

La alocación de As y Cd fue mayor en las raíces de las plantas afectadas por el vertido, especialmente la de As. Esta acumulación preferencial de As en raíz pudo motivar, al menos en parte, la menor alocación del elemento en las hojas (limbos), capítulo y semillas de las plantas afectadas por el vertido, respecto a las no afectadas. La alocación de Cd, por el contrario, fue prácticamente igual en las

hojas de las plantas afectadas y no afectadas, y también razonablemente similar en el capítulo. Sin embargo, en las semillas, su alocación como, la de As, fue menor en las plantas afectadas por el vertido. Puede afirmarse que las plantas de girasol preservan sus semillas del efecto potencialmente tóxico de ambos elementos mediante algún mecanismo de exclusión.

#### *Alocación relativa a la biomasa (ARB)*

En la raíz, siempre se obtuvieron valores de ARB  $< 1$  para N y P, esto es, se produjo una dilución del nutriente, debido en parte a su transporte hacia la parte aérea. Durante el crecimiento inicial, esta dilución fue mayor en las raíces de las plantas afectadas, especialmente en el caso del P, circunstancia que podría reflejar problemas de absorción ante la presencia de elementos traza. En fases posteriores del crecimiento se obtuvo un comportamiento inverso.

En las hojas (limbos) se obtuvieron, en general, valores de ARB  $\geq 1$ , salvo en el estado R8, en el que se produjo una dilución de ambos nutrientes, coincidiendo con la ausencia de actividad metabólica en las hojas. En el capítulo se produjo una fuerte acumulación inicial de N y P (estado R2) consecuencia de la intensa retranslocación de nutrientes básicos requerida para la formación de nuevas estructuras reproductoras. Posteriormente, se produjo un fuerte descenso de los valores ARB, más acusado en el estado R8, coincidiendo con su acumulación en las semillas.

En general, tanto en hojas como en capítulo y semillas, los valores de ARB para N y P fueron mayores en las plantas afectadas por el vertido. En el caso de las semillas, este comportamiento refleja la existencia de mecanismos que aseguren, ante una situación de estrés, una adecuada reserva de nutrientes básicos para el desarrollo del embrión.

Los valores de ARB para Cu y Zn reflejaron, una vez más, la acumulación preferencial de Cu en la raíz de las plantas afectadas, siendo menor la acumulación de ambos elementos en el capítulo y semillas de estas mismas plantas, respecto a las plantas no afectadas por el vertido. Por consiguiente, cabe pensar que ante una situación de estrés, la planta cuenta con mecanismos necesarios para combatir la toxicidad "potencial" de ambos elementos.

La existencia de mecanismos de este tipo resultó aún más evidente en el caso de As y Cd, elementos cuya acumulación en la raíz fue muy superior en el

caso de las plantas afectadas, con diferencias significativas, respecto a las plantas no afectadas, en la generalidad de los casos. Cabe destacar la fuerte dilución experimentada por el As en el capítulo y semillas de las plantas afectadas y no afectadas, así como en las hojas de las primeras (consecuencia, posiblemente, de su mayor retención en la raíz).

En el caso del Cd, debido a su mayor movilidad, no se observó esta clara dilución en hojas y semilla, donde incluso se obtuvieron valores de  $ARB > 1$ . Sin embargo, su acumulación en las semillas resultó significativamente más baja en las plantas afectadas que en las no afectadas, fruto de los mecanismos de "defensa", ante una situación de estrés, mencionados anteriormente.

#### *Tasas de absorción específica y utilización específica (SAR y SUR)*

Los mayores valores de SAR correspondieron a los elementos N y P, elementos fundamentales para el desarrollo de las plantas. Los valores de Zn y Cu, y especialmente de As y Cd, fueron mucho más bajos (varios órdenes de magnitud) coincidente con los requerimientos de concentraciones más bajas (Zn y Cu) o carencia absoluta de un papel fisiológico en las plantas (As y Cd). Los valores de SAR correspondientes a los cuatro elementos traza estudiados fueron mayores en las plantas afectadas, debido posiblemente a su mayor concentración y disponibilidad en el suelo.

Los valores de SUR reflejan la contribución de un elemento al peso seco de la planta, siendo mayor cuanto menor resulte su relación con la biomasa. En este contexto, los valores más bajos correspondieron a N y P, y los más altos (varios órdenes de magnitud) a As y Cd, elementos que no son necesarios para las plantas. En general, los valores de SUR correspondientes a los elementos traza estudiados, Cu, Zn, As y Cd fueron mayores en las plantas no afectadas, debido posiblemente a que estos elementos deben ser debidamente "compartimentados", y/o retenidos en la raíz, en las plantas de la parcela afectada por el vertido, sin que intervengan de forma directa en el crecimiento de la hoja (órgano seleccionado para el estudio de estos parámetros).

## **9. CONCLUSIONES GENERALES**

Tras el seguimiento, durante tres años, de la concentración de nutrientes y elementos traza en suelos y plantas de la cuenca del río Guadiamar afectados por el vertido minero de Aznalcóllar, se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. A pesar de las labores de limpieza y recuperación, las concentraciones totales de elementos traza de los suelos afectados por el vertido fueron (tres años después del accidente) muy superiores a las de los suelos que no fueron afectados, según reflejaron los valores de S (hasta 3 %, en los suelos más contaminados, frente a 0,01 % de los suelos de referencia), concentraciones de elementos traza e índices de carga contaminante (PLI, hasta valores de 14); además, se registró una fuerte variabilidad en los niveles de contaminación de las distintas zonas estudiadas (por ejemplo, las concentraciones de As de los suelos afectados oscilaron entre 50 y 500 mg kg<sup>-1</sup>).
2. Las concentraciones de elementos potencialmente disponibles (extraídos con EDTA) también fueron altas en los suelos afectados, aunque no siempre hubo correspondencia con las concentraciones totales, ni con la absorción efectuada por las plantas, consecuencia de las numerosas variables edafo-climáticas que influyen sobre su disponibilidad.
3. En general, la influencia de la contaminación residual de los suelos sobre las concentraciones de macronutrientes fue más acusada en el caso de la especie rastrera estudiada (grama) que en las arbóreas. En los suelos afectados, la

grama alcanzó concentraciones más bajas de N y K, y mayores de Ca (y de Mg y S, aunque no de forma tan generalizada) que en los suelos no contaminados. Ocasionalmente, también se observó esta tendencia en las hojas y ramas y frutos del álamo blanco, acebuche y encina (menores concentraciones de N y K, y mayores de Ca, en los suelos afectados).

4. Las concentraciones de los elementos traza As, Cd, Cu, Pb, Tl y Zn en los tejidos de la grama afectada por el vertido fueron mayores, en general, que las registradas en la grama no afectada, aunque las diferencias no siempre fueron significativas. Las concentraciones medias más altas obtenidas en elementos como As, Cd, Pb y Tl fueron del orden de  $15 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $2 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $30 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$  respectivamente, concentraciones que tendieron a descender con el tiempo. En muestras sin descontaminar se alcanzaron concentraciones puntuales de algunos elementos (hasta  $43 \text{ mg kg}^{-1}$  de As,  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  de Cd,  $70 \text{ mg kg}^{-1}$  de Pb y  $450 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn) que podían resultar tóxicas para determinados componentes de la red trófica. También se ha observado un descenso con el tiempo en los niveles de contaminación externa de la grama, aunque las concentraciones de elementos como el Cd, fácilmente biomagnificable, todavía seguían siendo altas en el último muestreo realizado (año 2001).
5. Las concentraciones de Cd ( $13,6 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y Zn ( $1200 \text{ mg kg}^{-1}$ ) fueron las que experimentaron un mayor incremento en las hojas y ramas de los álamos afectados por el vertido, aunque sin llegar, como en el caso de la grama, a los niveles que se han registrado para esta especie en otras latitudes. Las concentraciones de As, Pb y Tl aumentaron en menor medida, respecto a los árboles no afectados, no habiéndose registrado cambios importantes en las concentraciones de Fe, Mn y Cu. A pesar de su abundancia en el vertido, la acumulación de Cu en hojas y ramas fue muy baja. En esta especie, se observó un patrón temporal descendente en el caso del As y Pb. Las concentraciones de Cd y Zn se mantuvieron altas en los árboles afectados, y razonablemente uniforme a lo largo de los tres años de estudio, indicando la gran capacidad del álamo blanco para la absorción y transporte de ambos elementos.

6. Las mejores correlaciones entre los contenidos de elementos potencialmente disponibles en el suelo y en las hojas del álamo, se obtuvieron para Cd y Zn por lo que puede afirmarse que, bajo nuestras condiciones, el álamo blanco puede ser una buena especie indicadora de la contaminación por ambos elementos. La grama también puede ser útil en este sentido. Las concentraciones de As en los tejidos vegetales de ambas especies también pueden ser orientativas del nivel de contaminación de los suelos con este elemento. Además de por su carácter bioindicador, ambas especies son muy útiles como elementos estabilizadores del cauce (álamo) y suelos (grama).
7. Las concentraciones de elementos traza en los tejidos de las hojas y ramas del acebuche fueron, en general, más altas en las plantas afectadas por el vertido que en las no afectadas, aunque en ningún caso se alcanzaran valores extremos. En la encina, las diferencias fueron menores, detectándose aumentos significativos solamente en los niveles de Zn de las hojas. Las concentraciones de elementos traza fueron siempre mayores en las hojas maduras, donde se fueron acumulando progresivamente, especialmente en la zona afectada por el vertido. Respecto a las hojas jóvenes, los aumentos resultaron mayores en la encina que en el acebuche. Las concentraciones de los elementos traza As, Fe, Pb y Tl en las hojas y ramas de la encina y el acebuche tendían a disminuir a lo largo de los tres años de estudio, tanto en las muestras contaminadas como en las descontaminadas por lavado. En el caso de la encina, cabe destacar las elevadas concentraciones que se registraron inicialmente en las hojas sin lavar, no sólo en la zona afectada, sino también en la zona adyacente que no fue afectada por el vertido, lo que refleja la importancia que tuvo al principio la contaminación atmosférica. Ocasionalmente, las concentraciones de Pb y Cd en las hojas sin lavar de ambas especies, y las de Cu en las hojas de la encina, superaron los umbrales de toxicidad para el ganado. En accidentes de este tipo, estaría justificada la prohibición del ramoneo no sólo en las zonas de mayor incidencia, sino también en áreas adyacentes.
8. Los frutos de la encina (bellotas) y acebuche (acebuchinas) tienen especial incidencia en la red trófica, al formar parte de la dieta de numerosos animales del área de estudio. En general, las concentraciones de As y Cd fueron más

altas, significativamente, en la pulpa y semilla de las acebuchinas de los árboles afectados por el vertido. Respecto a los árboles no afectados, los incrementos resultaron más altos en el caso de la semilla, a pesar de estar ésta más protegida. Las concentraciones de As, Pb, Tl y Fe en la pulpa tendieron a disminuir con el tiempo, mientras que las Cd y Zn se mantuvieron razonablemente constantes. En acebuchinas sin descontaminar, se alcanzaron concentraciones altas de elementos traza en el primer año de estudio, tanto en la zona afectada como en la no afectada por el vertido (por ejemplo, As 25 mg kg<sup>-1</sup>, Pb 41 mg kg<sup>-1</sup> y Fe 3120 mg kg<sup>-1</sup>), lo que vuelve a poner en evidencia la importancia inicial que tuvo la contaminación atmosférica para la composición de estos frutos desnudos.

9. Las concentraciones de elementos traza en las semillas de la encina fueron muy bajas, al estar cubiertas por un pericarpio endurecido. En general, no se produjeron cambios espacio-temporales de importancia, salvo aumentos ocasionales, significativos, de la concentración de Tl en las semillas de las plantas afectadas, respecto a las no afectadas por el vertido. De cualquier forma, las concentraciones siempre fueron bajas (siempre menores que 0,02 mg kg<sup>-1</sup>).
10. Las tasas de crecimiento relativo y alocaión de biomasa del girasol fueron razonablemente similares en la parcela afectada y en la no afectada por el vertido, salvo en la fase final del período reproductor, en la que se obtuvieron valores ligeramente más altos en la parcela afectada. Esto parece indicar que la planta realizó una mayor "inversión" de recursos en estructuras reproductoras ante el estrés ocasionado por la presencia de elementos traza.
11. En cuanto a los nutrientes y elementos traza, cabe destacar que la alocaión de N y P fue mayor en las estructuras reproductoras de las plantas afectadas por el vertido, mientras que la de elementos traza potencialmente tóxicos, como As, Cd y Cu, fue menor. Esto confirma el hecho de que la planta preservó sus estructuras reproductoras, ante la situación de estrés antes mencionada, asegurando un suministro adecuado de nutrientes básicos y evitando elementos potencialmente tóxicos (cuya alocaión preferencial se registró en las raíces de las plantas afectadas).

Indicar por último que aunque la inmediata labor de limpieza de suelos que se realizó tras el accidente fue una medida muy acertada y plenamente justificada, (en zonas puntuales donde no pudieron retirarse los lodos las concentraciones de elementos traza en planta siguen siendo muy altas), el área afectada por el vertido presenta todavía una contaminación residual importante. Ante esta situación, la presencia de una cubierta vegetal resulta imprescindible para estabilizar el suelo.

Tanto las especies autóctonas, como la cultivada, estudiadas por nosotros pueden desarrollar un excelente papel en este sentido, teniendo en cuenta que, en general, la contaminación residual existente en el suelo no ha generado niveles claramente fitotóxicos, y razonablemente permisibles para la red trófica. No tendría sentido abordar otras metas contempladas en el campo de la fitorremediación, como la fitoextracción, dado que para estos fines, la extracción de elementos traza efectuada por las especies estudiadas sería muy baja.



## **10. BIBLIOGRAFÍA**

**Abrahamson, W.G., Caswell, H., 1982.** On the comparative allocation of biomass, energy and nutrients in plants. *Ecology* 63, 982-991.

**Adriano, D.C., 1986.** Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer-Verlag, New York.

**Aguilar, J., Bellver, C., Dorronsoro, E., Fernández, J., García, I., Iriarte, A., Martín F., Ortiz, I., Simón, M., 2003.** Estudio de la contaminación del suelo y técnicas de tratamiento de inmovilización de metales en la cuenca del Guadamar. En: Ciencia y Restauración del Río Guadamar. PICOVER 1998-2002. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, pp 52-59.

**Alastuey, A., García-Sánchez A., Lóez F., Querol X., 1999.** Evolution of pyrite mud weathering and mobility of heavy metals in the Guadamar valley after the Aznalcóllar spill, South-West Spain. *The Science of the Total Environment* 242, 41-55.

**Alba, A., Llanos, M.L., 1990.** El Cultivo del Girasol. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.

**Al-Shayeb, S.M., Al-Rajhi, M.A., Seaward, M.R.D., 1995.** The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) as a biomonitor of lead and other elements in arid environments. *The Science of the Total Environment* 168, 1-10.

**Annenkov, B.N., 1982.** Mineral feeding of pigs. En: Georgievskii, V.I., Annenkov, B.N., Samokhin, V.I. (eds.). Mineral Nutrition of Animals. Butterworths, London, pp 355-389.

**Arenas, J.M., Carrero, G., Galache, J., Mediavilla, C., Silgado, A., Vázquez, E.M., 2001.** Actuaciones realizadas tras el accidente de Aznalcóllar. En: Ayora, C., Baretino, D., Carrera, J., Manzano, M., Mediavilla, C. (eds.). Boletín Geológico y

Minero, 112 (nº especial: Las aguas y los suelos tras el accidente de Aznalcollar), pp 35-56.

**Askoy, A., Öztürk, M., 1996.** *Phoenix dactylifera* as a biomonitor of heavy metal pollution in Turkey. *Journal of Trace and Microprobe Techniques* 14, 605-614.

**Askoy, A., Öztürk, M.A., 1997.** *Nerium oleander* L. as a biomonitor of lead and other heavy metal pollution in Mediterranean environments. *The Science of the Total Environment* 205, 145-150.

**Ayora, C., Baretino, D., Carrera, J., Manzano, M., Mediavilla, C., (eds.) 2001.** Las aguas y los suelos tras el accidente de Aznalcollar. *Boletín Geológico y Minero* 112 (número especial).

**Baker, A.J.M., 1981.** Accumulators and excluders - strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition* 3, 643-654.

**Baker, A.J.M., Brooks, R.R., 1989.** Terrestrial higher plants which hyperaccumulate heavy elements: a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1, 81-126.

**Bañuelos, G.S., Ajwa, H.A., 1990.** Trace elements in soils and plants: an overview. *Journal of Environmental Science and Health A34*, 951-974.

**Barceló, J., Poschenrieder, Ch., 1990.** Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *Journal of Plant Nutrition* 13, 1-37.

**Barceló, J., Poschenrieder, Ch., 1992.** Respuestas de las plantas a la contaminación por metales pesados. *Suelo y Planta* 2, 345-361.

**Barceló, J., Poschenrieder, Ch., 1999.** Structural and ultrastructural changes in heavy metal exposed plants. En: Prasad, M.N.V., (ed.). *Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin, pp 183-206.

**Bargagli, R., 1995.** The elemental composition of vegetation and the possible incidence of soil contamination of samples. *The Science of the Total Environment* 176, 121-128.

**Bargagli, R., 1998.** *Trace Elements in Terrestrial Plants: An Ecophysiological Approach to Biomonitoring and Biorecovery*. Springer-Verlag, Berlin.

**Bargagli, R., Monaci, F., Agnorelli, C., 2003.** Oak leaves as accumulators of airborne elements in an area with geochemical and geothermal anomalies. *Environmental Pollution* 124, 321-329.

**Barman, S.C., Sahu, R.K., Bhargava, C., Chatterjee, C., 2000.** Distribution of heavy metals in wheat, mustard, and weed grown in field irrigated with industrial effluents. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64, 489-496.

**Bech, J., Poschenrieder, C., Llugany, M., Barceló, J., 1997.** Arsenic and heavy metal contamination of soil and vegetation around a copper mine in northern Peru. *The Science of the Total Environment* 203, 83-91.

**Bengtsson, G., Travik, L., 1989.** Critical metal concentration for forest soil invertebrates. *Water, Air, and Soil Pollution* 47, 381-417.

**Benner, B.L., Bazzaz, F.A., 1987.** Effects of timing of nutrient addition on competition within and between two annual plant species. *Journal of Ecology* 75, 229-245.

**Beyer, W.N., 1986.** A reexamination of biomagnification of metals in terrestrial food-chains. *Environmental Toxicology and Chemistry* 5, 863-864.

**Beyer, W.N., 2000.** Hazards to wildlife from soil-borne cadmium reconsidered. *Journal of Environmental Quality*, 29, 1380-1384.

**Bhandal, I-S, Kaur, H., 1992.** Heavy metal inhibition of nitrate uptake and in vivo nitrate reductase in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) *Ind. Journal of Plant Physiology* 35, 281-284.

**Blamey, F.P.C., Zollinger, R.K., Schneiter A.A., 1997.** Sunflower production and culture. En: Schneiter, A.A., (ed.). *Sunflower Technology and Production*. ASA, Madison, pp 595-670.

**Blinda, A., Koch, B., Ramanjulu, S., Dietz, K-J., 1997.** De novo synthesis and accumulation of apoplastic proteins in leaves of heavy metal-exposed barley seedlings. *Plant, Cell and Environment* 20, 969-981.

**Böhm, P., Wolterbeek, H., Verburg, T., Musílek, L., 1998.** The use of tree bark for environmental pollution monitoring in the Czech Republic. *Environmental Pollution* 102, 243-250.

**Boussana, N., Ovariti, O., Ghorbae, M-H., 1999.** Changes in growth and nitrogen assimilation in barley seedlings under cadmium stress. *Journal of Plant Nutrition* 22, 731-752.

**Bowen, H.J.M., 1979.** *Environmental Chemistry of the Elements*. Academic Press, London.

- Bower, C.A., Reitemeier, R.F., Fireman, M., 1952.** Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils. *Soil Science* 73, 251-261.
- Boyko, H., 1966.** Salinity and Acidity. New Approaches to Old Problems. Monograph. Biol., vol.16, Dr.W. Junk Publisher, La Haya.
- Bringezu, K., Lichtenberger, O., Leopold, I., Neuman, D., 1999.** Heavy metal tolerance of *Silene vulgaris*. *Journal of Plant Physiology* 154, 536-546.
- Brooks, R.R., Lee, J., Reeves, R.D., Jaffré, T., 1977.** Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *Journal of Geochemical Exploration* 7, 49-77.
- Brun, L. A., Maillet, J., Hinsinger, P., Pépin, M., 2001.** Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environmental Pollution* 111, 293-302.
- Burton, G., 1978.** El pasto bermuda. En: Hughes, H.D., Metcalfe D.S., (eds.). Forages. C.E.C.S.A. México, pp 305-314.
- Bussotti, F., Gellini, R., Ferretti, M., Cenni, E., Pietrini, R., Sbrilli, G., 1992.** Monitoring in 1989 of mediterranean tree condition and nutritional status in southern Tuscany, Italy. *Forest Ecology Management* 51, 81-93.
- Cabezudo, B., Pérez-Latorre, A.V., Navas, P., Navas, D., Gil, Y., 2003.** Vegetación de la Cuenca del río Guadiamar: bases para su conservación y restauración. En: Ciencia y Restauración del Río Guadiamar. PICOVER 1998-2002. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, pp 352-369.
- Cabrera, F., Clemente, L., Díaz Barrientos, E., López, R., Murillo, J.M., 1999.** Heavy metal pollution of soils affected by the Guadiamar toxic flood. *The Science of the Total Environment* 242, 117-129.
- Cabrera, F., 2000.** La contaminación por metales pesados en el Valle del Guadiamar tras el vertido de Aznalcóllar. *Retema* enero-febrero, 37-48
- Cabrera, F., Clemente, L., Cordón, R., Hurtado, M.D., López, R., Madejón, P., Marañón, T., Moreno, F., Murillo, J.M., Nagel, I., 2003.** Heavy metals pollution in soils of the Guadiamar river valley. En: Del Valls, T.A. y Blasco, J., (eds.). Integrated Assessment and Management of the Ecosystems Affected by the Aznalcollar Mining Spill (SW, Spain). UNESCO Publication (en prensa).

**Carbonell, A.A., Aarabi, M.A., DeLaune, R.P., Gambrell, R.P., Patrick, Jr W.H., 1998.** Arsenic in wetland vegetation: availability, phytotoxicity, uptake and effects on plant growth and nutrition. *The Science of the Total Environment* 217, 189-199.

**Carrero, G., Vázquez, E.M., 2001.** Restauración edáfica y morfología de la llanura aluvial y ribera. En: Ayora, C., Barettino, D., Carrera, J., Manzano, M., Mediavilla, C. (eds.). *Boletín Geológico y Minero*, 112 (nº especial: Las aguas y los suelos tras el accidente de Aznalcollar), pp 114-120.

**Carter, J.F. (ed.), 1978.** Sunflower Science and Technology. The American Society of Agronomy, Wisconsin.

**Cataldo, D.A., Garland, T.R., Wildung, R.E., 1978.** Nickel in plants. 1. Uptake kinetics using intact soybean seedlings. *Plant Physiology* 62, 563-565.

**Chaney R.L., 1989.** Toxic element accumulation in soils and crops: protecting soil fertility and agricultural food-chains. En: Bar-Yosef, B., Barrow, N.J., Goldshmid, J., (eds.). *Inorganic Contaminants in the Vadose Zone*. Springer-Verlag, Berlín, pp 140-158.

**Chaney, R.L., Li, Y-M., Brown, S.L., Homer, F.A., Malik, M., Angle, J.S., Baker, A.J.M., Reeves, R.D., Chin, M., 2000.** Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress. En: Terry, N., Bañuelos, G. (eds.). *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Lewis Publishers, Londres, pp 129-158.

**C.E.T.I.O.M., 1992.** "Physiologie du tournesol". Centre Technique Interprofessionnel des Oléagineux Métropolitains, París.

**Cherney, J.H., Robinson, D.L., 1983.** A comparison of plant digestion methods for identifying soil contamination of plant tissue by Ti analysis. *Agronomy Journal* 75, 145-147.

**Chiariello, N.R., Mooney, H.A., Willians, K., 1989.** Growth, carbon allocation and cost of plant tissues. En: Ehleringer, J., Mooney, H.A., Rundel, P.W., (eds.). *Plant Physiological Ecology*. Percy, R.W., Chapman and Hall, Londres, pp 337-365.

**Clemente, L., Cabrera, F., García, L.V., Cara, J.S., 2000.** Reconocimiento de suelos y estudio de su contaminación por metales pesados en el valle del Guadiamar. *Edafología* 7-3, 337-349.

**CMA (CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE), 1998.** Informes Científicos sobre el Seguimiento del Accidente de Aznalcóllar. Junta de Andalucía, Sevilla.

**CMA (CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE), 2000.** Programa de Investigación del Corredor Verde del Guadiamar. PICOVER 1999-2002. Secretaría General Técnica, Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía.

**CMA (CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE), 2001.** Corredor Verde del Guadiamar. Abril 1998-Abril 2001. Secretaría General Técnica, Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, Sevilla.

**CMA (CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE), 2003.** Ciencia y Restauración del Río Guadiamar. PICOVER 1998-2002. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía.

**Colinet, E., Griepink, B., Muntau, H., 1982.** The certification of the contents of cadmium, copper, manganese, mercury, lead and zinc in two plants material of aquatic origin (BCR number 60 and 61) and in olive leaves (BCR number 62). BCR Information (reference materials), Report no. EUR 8119 EN, CEC, Bruselas.

**Cope, J.T., Evans, C.E., 1985.** Soil Testig. *Advances in Soil Science* 1, 204-208.

**Cunningham, S.D., Ow, D.W., 1996.** Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology* 110, 715-719.

**Dahmani-Muller, H., Van Oort, F., Gélíe, B., Balabane, M., 2000.** Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution* 109, 231-238.

**Das, P., Samantaray, S., Rout, G.R., 1997.** Studies on Cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution* 98, 29-36.

**De Koe, T., 1994.** *Agrostis castellana* and *Agrostis delicatula* on heavy metal and arsenic enriched sites in NE Portugal. *The Science of the Total Environment* 145, 103-109.

**Del Río, M., Font, R., Almela, C. Véñez, D., Montoro, R., De Haro, A., 2002.** Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadiamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. *Journal of Biotechnology* 98, 125-137.

**Demidchik, V., Davenport, R.J., Tester, M., 2002.** Nonselective cation channels in plants. *Annual Reviews of Plant Biology* 53, 67-107.

**Devis, S.R., Prasad, M.N.V., 1999.** Membrane lipid alterations in heavy metal exposed plants. En: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J., (eds.). Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems. Springer-Verlag, Berlin, pp 99-116.

**Devkota, B., Schmidt, G.H., 2000.** Accumulation of heavy metals in food plants and grasshoppers from the Taigetos Mountains, Greece. Agriculture, Ecosystems and Environment 78, 85-91.

**Diaz-Barrientos, E., Madrid, L., Cardo, I., 1999.** Effect of flood with mine wastes on metal extractability of some soils of the Guadamar river basin (SW Spain). The Science of the Total Environment 242, 149-165.

**Dickinson, N.M., Lepp, N.W., 1998.** Metals and trees: impacts, responses to exposure and exploitation of resistance traits. En: Prost R. INRA (ed.). Contaminated Soils. Colloque 85, Paris pp 247 – 254.

**Dickinson, N.M., 2000.** Strategies for sustainable woodland on contaminated soils. Chemosphere 41, 259-263.

**Dietz, K-J., Baier, M., Krämer, U., 1999.** Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. En: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J., (eds.). Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems. Springer-Verlag, Berlin, pp 73-98.

**Djingova, R., Wagner, G., Peshev, D., 1995.** Heavy metal distribution in Bulgaria using *Populus nigra* "Italica" as a biomonitor. The Science of the Total Environment 172, 151-158.

**Djingova, R., Wagner, G., Kuleff, I., Peshev, D., 1996.** Investigations on the time-dependent variations in metal concentration in the leaves of *Populus nigra* "Italica". The Science of the Total Environment 184, 197-202.

**Djingova, R., Wagner, G., Kuleff, I., 1999.** Screening of heavy metal pollution in Bulgaria using *Populus nigra* "Italica". The Science of the Total Environment 234, 175-184.

**Djingova, R., Ivanova, J., Wagner, G., Korhammer, S., Markert, B., 2001.** Distribution of lanthanoids, Be, Bi, Ga, Te, Tl, Th and U on the territory of Bulgaria using *Populus nigra* "Italica" as an indicator. The Science of the Total Environment 280, 85-91.

**Dmuchowski, W., Bytnerowicz, A., 1995.** Monitoring environmental pollution in Poland by chemical analysis of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) needles. Environmental Pollution 87, 84-104.

**Dudka, S., Miller, P., 1999.** Accumulation of potentially toxic elements in plants and their transfer to human food chain. *Journal of Environmental Science and Health B34*, 681-708.

**Eriksson, J., Ledin, S., 1999.** Changes in phytoavailability and concentration of cadmium in soil following long term *Salix* cropping. *Water, Air and Soil Pollution* 114, 171-184.

**Ernst, W.H.O., Verkleij, J.A.C., Schat, H., 1992.** Metal tolerance in plants. *Acta Botanica Neerlandica* 41, 229-248.

**Ernst, W.H.O., 1996.** Phytotoxicity of heavy metals. En: Rodríguez Barruecos, C. (ed.). *Fertilizers and Environment*. Kluwer Academic Publishers, pp 423-430.

**Ernst, W.H.O., 2000.** Evolution of metal hyperaccumulation and phytoremediation hype. *New Phytologist* 146, 357-358.

**EUROCONSULT, 1989.** *Agricultural Compendium for Rural Development in the Tropics and Subtropics*. Elsevier, Amsterdam.

**Evans, G.C., 1972.** *The Quantitative Analysis of Plant Growth*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

**Farmer, A.A., Farmer, A.M., 2000.** Concentrations of cadmium, lead and zinc in livestock feed and organs around a metal production centre in eastern Kazakhstan. *The Science of the Total Environment* 257, 53-60.

**Fernández, J.E., Moreno, F., Cabrera F., Arrue, J.L., Martín-Aranda, J., 1991.** Drip irrigation, soil characteristics and the root distribution and root activity of olive trees. *Plant and Soil* 133, 239-251.

**Fodor, E., Szabô-Nagy, A., Erdei, L., 1995.** Effect of Cadmium on the fluidity and H-ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. *Journal of Plant Physiology* 147, 87-92.

**Folkeson, L., Nyholm, N.E.I., Tyler, G., 1990.** Influence of acidity and other soil properties on metal concentrations in forest plants and animals. *The Science of the Total Environment* 96, 211-233.

**Foy, C.D., Scott, B.J., Fisher, J.A., 1988.** Genetic differences in plant tolerance to manganese toxicity. En: Graham, R.D., Hannam, R.J., Uren, N.C., (eds.). *Manganese in Soils and Plants*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, pp 293-307.



**Francesconi, K., Visoottiviset, P., Sridokchan, W., Goessler, W., 2002.** Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potential phytoremediator of arsenic-contaminated soils. *The Science of the Total Environment* 284, 27-35.

**Galán, E., González, I., Fernández-Caliani, J.C., 2002.** Residual pollution load of soils impacted by the Aznalcóllar (Spain) mining spill after clean-up operations. *The Science of the Total Environment* 286, 167-179.

**Gee, G.W., Bauder, J.W., 1986.** Particle size analysis. En: *Methods of soil analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods*. Agronomy nº 9 (2ª ed.), ASA.

**Godbold, D.L., Hüttermann, A., 1988.** Inhibition of photosynthesis and transpiration in relation to mercury-induced root damage in spruce seedlings. *Physiologia Plantarum* 74, 270-275.

**Goldsbrough, P., 2000.** Metal tolerance in plants: the role of phytochelatins and metallothioneins. En: Terry, N., Bañuelos, G., (eds.). *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Lewis Publishers, Londres, pp 221-234.

**Grant, C.D., Campbell, C.J., Charnock, N.R., 2002.** Selection of species suitable for derelict mine site rehabilitation in New South Wales, Australia. *Water, Air, and Soil Pollution* 139, 215-235.

**Gratton, W.S., Nkongolo, K.K., Spiers, G.A., 2000.** Heavy metal accumulation in soil and Jack Pine (*Pinus banksiana*) needles in Sudbury, Ontario, Canada. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64, 550-557.

**Greger, M., 1999.** Metal availability and bioconcentration in plants. En: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J., (eds.). *Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems*. Springer-Verlag, Berlín, pp 1-27.

**Greger, M., Lindberg, S., 1987.** Effects of  $\text{Cd}^{2+}$  and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris*) II. Net uptake and distribution of  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ . *Physiologia Plantarum* 69, 81-86.

**Griepink, B., Muntau, H., 1987.** The certification of the contents (mass fractions) of arsenic, cadmium, copper, lead, selenium and zinc in a sea lettuce (*Ulva lactuca*). CRM no. 279. BCR Information (reference materials), Report no. EUR 11185 EN, CEC, Bruselas.

**Griepink, B., Muntau, H., 1988a.** The certification of the contents (mass fractions) of As, B, Cd, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se and Zn in rye grass CRM

281. BCR Information (reference materials), Report no. EUR 11839 EN, CEC, Bruselas.

**Griepink, B., Muntau, H., 1988b.** The certification of the contents (mass fractions) of As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sc, Se and Zn in three sediments. BCR Information, Report no. EUR 11850 EN. ECSC-EEE-EAEC, Bruselas.

**Grill, E., Winnacker, E-L., Zenk, M.H., 1985.** Phytochelatins: the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants. *Science* 230, 674-676.

**Grimalt, J.O., Ferrer, M., Macpherson, E., 1999.** The mine tailing accident in Aznalcóllar. *The Science of the Total Environment* 242, 3-11.

**Gupta, U.C., Gupta, S.C., 1998.** Trace element toxicity relationships to crop production and livestock and human health: implications for management. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 29, 1491-1522.

**Gupta, S.K., Herren, T., Wenger, K., Krebs, R., Hari, T., 2000.** *In situ* gentle remediation measures for heavy metal-polluted soils. En: Terry, N., Bañuelos, G., (eds.). *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Lewis Publishers, Londres, pp 303-322.

**Hagemeyer, J., Breckle, S.W., 1996.** Growth under trace elements stress. En: Waisel, Y., Eshel A., Kafkafi, U., (eds.). *Plant Roots: the Hidden Half*. 2nd ed., Dekker, Nueva York, pp 415-433.

**Hagemeyer, J., 1999.** Ecophysiology of plant growth under heavy metal stress. En: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J., (eds.). *Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems*. Berlin, Springer-Verlag, pp 157-181.

**Hapke, H-J., 1991.** Effects of metals on domestic animals. Merian E. (ed.). *Metals and their Compounds in the Environment. Occurrence, Analysis, and Biological Relevance*. C.C.H. Weinheim, Nueva York, pp 531-546.

**Harmsen, K., 1992.** Long-term behavior of heavy metals in agricultural soils: a simple analytical model. En: Adriano, D.C. (ed.). *Biogeochemistry of Trace Metals*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, pp 217-247.

**Harter, R.D., Naidu, R., 1995.** Role of metal-organic complexation in metal sorption by soils. *Advances in Agronomy* 55, 219-263.

**Haug, A., Caldwell, C.R., 1985.** Aluminium toxicity in plants: role of the root plasma membrane and calmoduline. En: John, J.B., Berlin, E., Jackson, P.C. (eds.).

Frontiers of Membrane Research. Beltsville Symposium 9. Rowan & Allanheld, Totowa, pp 359-381.

**Healy, W.B., 1973.** Nutritional aspects of soil ingestion by grazing animals. En: Butler, G.H., Bailey, R.W., (eds). Chemistry and Biochemistry of Herbage. Vol.1. Academic Press. Londres, pp 567-588.

**Hickman, J.C., Pitelka, L.F., 1975.** Dry weight indicated energy allocation in ecological strategy analysis of plants. *Oecologia* 21, 117-121.

**Hinsinger, P., 1998.** How do plant roots acquire mineral nutrients?. Chemical processes involved in the rhizosphere. *Advances in Agronomy* 64, 225-265.

**Holm, L.G., Donald, P., Pancho, J.V., Herberger, J.P., 1977.** The World's Worst Weeds: Distribution and Biology. The University Press of Hawaii, Honolulu.

**Hrdlicka, P., Kula, E., 1998.** Element content in leaves of birch (*Betula verrucosa* Ehrh.) in an air polluted area. *Trees* 13, 68-73.

**Hunt, R., 1982.** Plant Growth Curves. The Functional Approach to Plant Growth Analysis. Edward Arnold, Londres.

**Hunt, R., 1990.** Basic Growth Analysis. Unwin Hyman, Londres.

**Iskandar, I.K.; Kirkham, M.B., (eds.) 2001.** Trace elements in Soil: Bioavailability, Flux, and Transfer. Lewis Publishers. Boca Raton, Florida.

**ITGE (Instituto Tecnológico Geominero de España), 1998.** Contribución al establecimiento del fondo geoquímico previo a la rotura de la balsa minera de Aznalcóllar, en el aluvial del río Guadiamar (Sector Aznalcóllar-Entremuros). Instituto Tecnológico Geominero de España, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

**ITGE (Instituto Tecnológico Geominero de España), 1999.** Contribución del ITGE a la valoración de los efectos del accidente de Aznalcóllar y la recuperación de la cuenca del río Guadiamar. Instituto Tecnológico Geominero de España, Madrid.

**Jamil, K., 2001.** Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution and Risk Assessment. Science Publishers, Inc., Enfield.

**Jarrell, W.M., Beverly, R.B., 1981.** The dilution effect in plant nutrition studies. *Advances in Agronomy* 34, 197-224.

**JE – MP (JUNTA DE EXTREMADURA – MUNDI PRENSA), 1992.** Interpretación de Análisis de Suelo, Foliar y Agua de Riego. Consejo de Abonado (Normas Básicas). Coedición de la Consejería de Agricultura y Comercio de la Junta de Extremadura y Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

**Jiménez-Olivencia, Y., Paniza, A., Gómez-Zotano, J., 2003.** Análisis de los paisajes del Guadiana y de su evolución reciente como fundamento del diagnóstico territorial de la cuenca. En: Ciencia y Restauración del Río Guadiana. PICOVER 1998-2002. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, pp 482-493.

**Jung, M.C., Thornton, I., Chon, H., 2002.** Arsenic, Sb and Bi contamination of soils, plants, waters and sediments in the vicinity of the Dalsung Cu-W mine in Korea. The Science of the Total Environment 295, 81-89.

**Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 1992.** Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, Boca Raton, Florida.

**Kahle, H., 1993.** Response of roots of trees to heavy metals. Environmental and Experimental Botany 33, 99-119.

**Kamnev, A.A., Van der Lelie, D., 2000.** Chemical and biological parameters as tools to evaluate and improve heavy metal phytoremediation. Bioscience Reports 20, 239-258.

**Kazantzis, G., 2000.** Thallium in the environment and health effects. Environmental Geochemistry and Health 22, 275-280.

**Keay, J., Biddiscombe, E.F., Ozanne, P.G., 1970.** The comparative rates of phosphate absorption by eight annual pastures species. Australian Journal of Agricultural Research 21, 33-44.

**Kennedy, C.D., Gonsalves, F.A.N., 1987.** The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and H<sup>+</sup> efflux of excised roots. Journal of Environmental and Experimental Botany 38, 800-817.

**Khan, D.H., Duckett, J.G., Frankland, B., Kirkham, J.B., 1984.** An X-ray microanalytical study of the distribution of cadmium in roots of *Zea mays* L. Journal of Plant Physiology 115, 19-28.

**Konings, H., Koot, E., Tijman-de Wolf, A., 1989.** Growth characteristics, nutrient allocation and photosynthesis of *Carex* species from floating fens. Oecologia 80, 111-121.

**Kozlov, M.V., Haukioja, E., Bakhtiarov, A.V., Stroganov, D.N., 1995.** Heavy metals in birch leaves around a nickel-copper smelter at Monchegorsk, Northwestern Russia. *Environmental Pollution* 90, 291-299.

**Kozlov, M.V., Haukioja, E., Bakhtiarov, A.V., Stroganov, D.N., Zimina, S.N., 2000.** Root versus canopy uptake of heavy metals by birch in an industrially polluted area: contrasting behaviour of nickel and copper. *Environmental Pollution* 107, 413-420.

**Krämer, U., Cotter-Howells, J.D., Charnock, J.M., Baker, A.J., Smith, J.A.C., 1996.** Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature* 379, 635-638.

**Lambers, H., Freijssen, N., Poorter, H., Hirose, T., Van Der Werf, A., 1989.** Analyses of growth based on net assimilation rate and nitrogen productivity. Their physiological background. En: Lambers, H., Cambridge, M.L., Konings, H., Pons, T.L., (eds.). *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity*. SPB Academic Publishing, La Haya, pp 1-17.

**Lan, C.Y., Shu, W.S., Wong, M.H., 1998.** Reclamation of Pb/Zn Mine tailings at Shaoguan, Guangdong province, people's republic of China: the role of river sediment and domestic refuse. *Bioresource Technology* 65, 117-124.

**Lasat, M.M., 2002.** Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of Environmental Quality* 31, 109-120.

**Lau, O.W., Luk, S.F., 2001.** Leaves of *Bauhinia blakeana* as indicators of atmospheric pollution in Hong Kong. *Atmospheric Environment* 35, 3113-3120.

**Lepp, N. W., 1981.** Copper. En: Lepp, N.W., (ed.). *Effect of Heavy Metal Pollution on Plants*. Vol. 1. Applied Science Publisher, Londres, pp 111-143.

**Levitt, J., 1980.** Responses of Plants to Environmental Stresses. Vol. 2. Academic Press Inc., Nueva York.

**Leyval, C., Turnan, K., Haselwandter, K., 1997.** Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7, 139-153.

**Liang, C.N., Tabati, M.A., 1977.** Effects of trace elements in nitrogen mineralization in soils. *Environmental Pollution* 12, 133-135.

**Liu, Z.P., 2003.** Lead poisoning combined with cadmium in sheep and horses in the vicinity of non-ferrous metal smelters. *The Science of the Total Environment* 309, 117-126.

**Lombi, E., Zhao, F-J., Fuhrmann, M., Ma, L.Q., McGrath, S.P., 2002.** Arsenic distribution and speciation in the fronds of the hyperaccumulator *Pteris vittata*. *New Phytologist* 156, 195-203.

**López Pamo, E., Arranz J.C., Antón C., Baretino D., 1999.** Contribución del ITGE a la evaluación de los efectos del accidente minero de Aznalcóllar sobre los suelos de la Cuenca del Guadiamar. *Tecnoambiente* 86, 21-26.

**Loppi S., Nelli, S., Ancora, S., Bargagli, R., 1997.** Passive monitoring of trace elements by means of tree leaves, epiphytic lichens and bark substrate. *Environmental Monitoring and Assessment* 45, 81-88.

**Ma, L.Q., Komar, K.M., Tu, C., Zhang, W., Cai, Y., Kennelley, E.D., 2001.** A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature* 409, 579.

**Macías, F., Calvo de Anta, R., García-Amador, E., Bodenle, R., 2003.** Bases científicas del proyecto de recuperación de suelos contaminados de la cuenca del río Guadiamar: caracterización y evolución del proceso contaminante. En: *Ciencia y Restauración del Río Guadiamar. PICOVER 1998-2002*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, pp 60-77.

**Macnair, M.R., Tilstone, G. H., Smith, S. E., 2000.** The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants. En: Terry, N., Bañuelos, G., (eds.). *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. Lewis Publishers, Londres, pp 235-250.

**Madejón, P., 2003.** Elementos traza y nutrientes en álamo blanco tras el vertido tóxico de las minas de Aznalcóllar. *Investigación Agraria. Sistemas y recursos forestales* 12 (3), 19-32.

**Madejón, P., Murillo, J.M., Marañón, T., Cabrera, F., López, R., 2001.** Elementos traza en gramíneas afectadas por el vertido tóxico de las minas de Aznalcóllar. *Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetales* 16, 429-446.

**Madejón, P., Murillo, J.M., Marañón, T., Cabrera, F., López, R., 2002.** Bioaccumulation of As, Cd, Cu, Fe and Pb in wild grasses affected by the Aznalcóllar mine spill (SW Spain). *The Science of the Total Environment* 290, 105-120.

**Madejón, P., Murillo, J.M., Marañón, T., Cabrera, F., Soriano, M.A., 2003a.** Trace element and nutrient accumulation in sunflower plants two years after the Aznalcóllar mine spill. *The Science of the Total Environment* 307, 239-257.

**Madejón, P., Murillo, J.M., Marañón, T., Cabrera, F., López, R. 2003b.** Elementos traza en Plantas superiores afectadas por el vertido de las minas de Aznalcóllar. En: *Ciencia y Restauración del Río Guadamar. PICOVER 1998-2002*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, pp 138-154.

**Madejón, P., Marañón, T., Murillo, J.M., Cabrera, F., 2003c.** Evolution of arsenic, lead, iron and manganese in evergreen trees affected by the Aznalcóllar mine spill. En: Del Valls, T.A., Blasco, J. (eds.). *Integrated Assessment and Management of the Ecosystems Affected by the Aznalcollar Mining Spill (SW, Spain)*, UNESCO Publication (en prensa).

**Madejón, P., Marañón, T., Murillo, J.M., Robinson, B., 2004.** White poplar (*Populus alba*) as a biomonitor of trace elements in contaminated riparian forests. *Environmental Pollution* (en revisión).

**Markert, B., 1987.** Interelement correlations in plants. *Fresenius' Zetschrift Fur Analytische Chemie* 329, 462-465.

**Markert, B., 1992.** Presence and significance of naturally occurring chemical elements of the periodic system in the plant organism and consequences for future investigations on inorganic environmental chemistry in ecosystems. *Vegetatio* 103, 1-30.

**Markert, B., 1993.** Instrumental analysis of plants. En: Markert, B. (ed.). *Plant as Biomonitors. Indicator for Heavy metals in the Terrestrial Environment*. Weinheim, VCH, pp 65-103.

**Markert, B., 1994.** The biological system of the elements (BSE) for terrestrial plants (glycophytes). *The Science of the Total Environment* 155, 221-228.

**Markert, B., 1995.** Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. *The Science of the Total Environment* 176, 45-61.

**Markert, B., Breure, A.M., Zechmeister, H.G., 2003.** Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. En: Markert, B., Breure, A.M., Zechmeister, H.G. (eds.). *Bioindicators & Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Elsevier, Amsterdam, pp 1-39.

**Makridis, C.H., Amberger, A., 1996.** Thallium concentration in soils and crops and critical values with respect to food chain. En: Rodríguez-Barrueco, C., (ed.). Fertilizers and Environment. Kluwer, Dordrecht, pp 443-448.

**Marschner, H., 1995.** Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, Cambridge.

**Mathys, W., 1977.** The role of malate, oxalate, and mustard oil glucosides in the evolution of zinc resistance in herbage plants. *Physiologia Plantarum* 40, 130-136.

**McDonald, A.J.S., 1989.** Phenotypic variation in growth rate as affected by N-supply: its effects on NAR, LWR y SLA. En: Lambers, H., Cambridge, M.L., Konings, H., Pons, T.L., (eds.). Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity. SPB Academic Publishing, La Haya, pp 35-44.

**McGrath, S.P., Zhao, F.J., Lombi, E., 2002.** Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. *Advances in Agronomy* 75, 1-56.

**McLauling, M.J., 2002.** Heavy metals. En: Lal, R. (ed.). Encyclopedia of Soil Science, Marcel Dekker Inc., Nueva York, pp 650-653.

**Meharg, A.A., Hartley-Whitaker, J., 2002.** Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and non resistant plant species. *New Phytologist* 154, 29-43.

**Mench, M., Vangronsveld, J., Clijsters, H., Lepp, N.W., Edwards, R., 2000.** *In situ* metal immobilization and phytostabilization of contaminated soils. En: Terry, N., Bañuelos, G., (eds.). Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. Lewis Publishers, Londres, pp 323-358.

**Mengel, K., Kirkby, E.A., 1987.** Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute, Berna.

**Mertens, J., Luyssaert, S., Verbeeren, S., Vervaeke, P., Lust, N., 2001.** Cd and Zn concentrations in small mammals and willow leaves on disposal facilities for dredged material. *Environmental Pollution* 115, 17-22.

**Messiaen, J., Cambier, P., Van Cutsem P., 1997.** Polyamines and pectins., I. Ion exchange and selectivity. *Plant Physiology* 113, 387-395.

**Monaci, F., Bargagli, R., 1997.** Barium and other trace metals as indicators of vehicle emissions. *Water Air and Soil Pollution* 100, 89-98.



- Monaci, F., Moni, F., Lanciotti, E., Grechi, D., Bargagli, R., 2000.** Biomonitoring of airborne metals in urban environments: new tracers of vehicle emission, in place of lead. *Environmental Pollution* 107, 321-327.
- Moraes, R.M., Delitti, W.B.C., Moraes, J.A.P.V., 2003.** Gas exchange, growth, and chemical parameters in a native Atlantic forest tree species in polluted areas of Cubatao, Brazil. *Ecological and Environmental Safety* 54, 339-345.
- Morera, M.T., Echeverría, J.C., Garrido, J.J., 2001.** Mobility of heavy metals in soils amended with sewage sludge. *Canadian Journal of Soil Science* 81, 405-414.
- Mortvedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M., Welch, R.M., (eds), 1991.** Micronutrients in Agriculture. SSSA Book Series no. 4. Soil Science Society of America, Inc. Madison.
- Mudarra, J.L., 1998.** Reconocimiento de los Suelos de la Comarca del Aljarafe (Sevilla). Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, Sevilla.
- Mukherjee, A.B., 2001.** Behavior of heavy metals and their remediation in metalliferous soils. En: Prasad, M.N.V., (ed.). *Metals in the Environment. Analysis by Biodiversity*. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, pp 433-471.
- Murillo, J.M., Marañón, T., Cabrera, F., López, R., 1999.** Accumulation of heavy metals in sunflower and sorghum plants affected by the Guadiamar spill. *The Science of the Total Environment* 242, 281-292.
- Naidu, R., Kookana, R.S., Summer, M.E., Harter, R.D., Tiller, K.G., 1997.** Cadmium sorption and transport in variable charge soils: a review. *Journal of Environmental Quality* 26, 602-617.
- Naidu, R., Krishnamurti, G.S.R., Bolan, N.S., Wenzel, W., Megharaj, M., 2001.** Heavy metal interactions in soils and implications for soil microbial biodiversity. En: Prasad, M.N.V., (ed.). *Metals in the Environment. Analysis by Biodiversity*. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, pp 401-431.
- Navarro, S., Navarro, G., 1988.** Temas de Química Agrícola. El Suelo y los Elementos Químicos Esenciales para la Vida Vegetal. Editorial Academia, S.L., León.
- Newman, D., 1992.** Element Stewardship Abstract for *Cynodon dactylon*. The Nature Conservancy. Virginia.
- Nissen, L.R., Lepp, N., 1997.** Baseline concentrations of Copper and Zinc in shoot tissues of a range of *Salix* species. *Biomass and Bioenergy* 12, 115-120.

**NRC (National Research Council), 1980.** Mineral Tolerance of Domestic Animals. Nat Acad Sci, Washington D.C.

**Olsen, S.R., Cole, C.W., Watanabe, F.S., Dean, L.A., 1954.** Estimation of available phosphorous in soils by extraction with sodium bicarbonate. US Dep. of Agriculture, Circular 939.

**Ow, D.W., 1996.** Heavy metal tolerance genes: prospective tools for bioremediation. Resources, Conservation and Recycling 18, 135-149.

**Page, A.L., Bingham, F.T., Chang, A.C., 1981.** Cadmium. En: Lepp, N.W., (ed.). Effect of Heavy Metal Pollution on Plants. Vol. 1. Applied Science Publisher, Londres, pp 77-109.

**Palacios, H., Iribarren, I., Olalla, M.J., Cala, V., 2002.** Lead poisoning of horses in the vicinity of battery recycling plant. The Science of the Total Environment 290, 81-89.

**Parametrix, 1995.** Persistence, Bioaccumulation and Toxicity of Metals and Metal Compounds. International Council on Metals and Environment (ICME), Ottawa.

**Patra, J., Panda, B.B., 1998.** A comparison of biochemical responses to oxidative and metal stress in seedlings of barley, *Hordeum vulgare* L. Environmental Pollution 101, 99-115.

**Pérez de Mora, A., Madejón, E., Madrid, F., Cabrera, F., 2003a.** Use of organic amendments to remediate heavy metal and toxic element contaminated soils. Proc. 7<sup>th</sup> Int. Conf. on the Biogeochemistry of Trace Elements. Uppsala 03.

**Pérez de Mora, A., Madejón, E., Madrid, F., Cabrera, F., 2003b.** Solubilidad y disponibilidad de elementos traza en suelos contaminados tratados con distintos enmendantes. Bienes, R., Marqués, M.J., (eds.). Libro de Actas I Simposio Nacional sobre el Control de la Erosión y Degradación del Suelo, Madrid, pp 431-434.

**Pérez de Mora, A., Cabrera, F., Ortega, J.J., Madejón, E., 2004.** Changes in Microbial biomass and dehydrogenase activity following organic and inorganic treatments of a trace element contaminated soil. Soil Biology and Biochemistry (en prensa).

**Pickard, J., Yang, R., Duncan, B., McDevit, C.A., Eickhoff, C., 2001.** Acute and Sublethal toxicity of thallium to Aquatic Organisms. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 66, 94-101.

**Pillay, A.E., Williams, J.R., El Mardi, M.O., Hassan, S.M., Al-Hamdi, A., 2002.** Monitoring of Cadmium in "on" and "off" date palms. *Environment International* 28, 273-276.

**Podlesáková, E., Nemecek, J., Vácha, R., 2000.** Mobility and bioavailability of trace elements in soils. En: Iskandar, I.K., Kirkham, M.B., (ed.). *Trace Elements in Soil. Bioavailability, Flux, and Transfer*. Lewis Publishers, Londres, pp 21-41.

**Poorter, H., 1989.** Interspecific variation in relative growth rate: on ecological causes and physiological consequences. En: Lambers, M.L., Cambridge, H., Konings, Pons, T.L., (eds.). *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity*. SPB Academic Publishing, La Haya, pp 45-68.

**Poorter, H., Van der Werf, A., 1998.** Is inherent variation in RGR determined by LAR at low irradiance and by NAR at high irradiance? A review of herbaceous species. En: Lambers, H., Poorter, H., Van Vuuren, M.M.I. (eds.). *Inherent variation in plant growth. Physiological mechanisms and ecological consequences*. Backhuys Publishers, Leiden, pp 309-336.

**Poorter, H., Nagel, O., 2000.** The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO<sub>2</sub>, nutrients and water: quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* 27, 595-607.

**Porter, E.K., Petersen, P.J., 1975.** Arsenic accumulation by plants on mine waste. *The Science of the Total Environment* 4, 365-371.

**Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J., (eds.), 1999.** *Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin.

**Prasad, M.N.V., Freitas, H., 2000.** Removal of toxic metals from solution by leaf, stem and root phytomass of *Quercus ilex* L. (holly oak). *Environmental Pollution* 110, 277-283.

**Pugh, R. E., Dick, D.G., Fredeen, A.L., 2002.** Heavy metal (Pb, Zn, Cd, Fe, and Cu) contents of plant foliage near the Anvil Range Lead/Zinc Mine, Faro, Yukon Territory. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 52, 273-279.

**Pugnaire, F.I., 2001.** Variability of inorganic nutrient concentrations in leaves. *New Phytologist* 150, 499-507.

**Pulford, I.D., Watson, C., 2003.** Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees – a review. *Environment International* 29, 529-540.

**Punshon, T., 2001.** Tree crops. En: Prasad, M.N.V. (ed.). Metals in the Environment. Analysis by Biodiversity. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, pp 321-351.

**Punz, W.F., Sieghardt, H., 1993.** The response of roots of herbaceous plant species to heavy metals. Environmental and Experimental Botany 33, 85-98.

**Querol, X., Alastuey, A., López-Soler, A., Plana, F., Mesas, A., Ortiz, L., Alzaga, R., Bayona, J.M., De la Rosa, J., 1999.** Physico-chemical characterisation of atmospheric aerosols in a rural area affected by the Aznalcollar toxic spill, south-west Spain during the soil reclamation activities. The Science of the Total Environment 217, 89-104.

**Quevauviller, P.H., Rauret, G., López-Sánchez, J.F., Rubio, R., Ure, A., Muntau, H., 1997.** The certification of the extractable contents (mass fractions) of Cd, Cr, Ni, Pb and Zn in sediment following a three-step sequential extraction procedure: CRM 601. BCR Report EUR-17554-EN, European Commission, Bruselas.

**Rautio, P., Huttunen, S., 2003.** Total vs. internal element concentrations in scots pine needles along a sulphur and metal pollution gradient. Environmental Pollution 122, 273-289.

**Reimann, C., Caritat, P., 1998.** Chemical Elements in the Environment. Factsheets for the Geochemist and Environmental Scientist. Springer-Verlag, Berlín.

**Reimann, C., Koller, F., Kashulina, G., Niskavaara, H., Englmaier, P., 2001a.** Influence of extreme pollution on the inorganic chemical composition of some plants. Environmental Pollution 115, 239-252.

**Reimann, C., Koller, F., Frengstad, B., Kashulina, G., Niskavaara, H., Peter, E., 2001b.** Comparison of the element composition in several plant species and their substrate from a 1500000 km<sup>2</sup> area in Northern Europe. The Science of the Total Environment 278, 87-112.

**Rengel, Z., 1997.** Mechanisms of plant resistance to toxicity of Aluminium and heavy metals. En: Basra, A. S., Basra, R. K. (eds.). Mechanisms of Environmental Stress Resistance in plants. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, pp 241-276.

**Robinson, B.H., Brooks R.R., Howes, A.W., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H., 1997.** The potential of the high-biomass nickel hyperaccumulator *Berheya coddii* for phytoremediation and phytomining. Journal of Geochemical Exploration 60, 115-126.

**Robinson, B.H, Leblanc, M., Petit, D., Brooks, R.R., Howes, A.W., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H., 1998.** The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. Plant and Soil 203, 47-56.

**Robinson, B., Mills, T.M., Petit, D., Fung, L.E., Green, F.S., Clothier, E., 2000.** Natural and induced cadmium-accumulation in poplar and willow: Implications for phytoremediation. Plant and Soil 227, 301-306.

**Robinson, B., Fernández, J.E., Madejón, P., Marañón, T., Murillo, J.M., Green, S., Clothier, B., 2003.** Phytoextraction: an assessment of biogeochemical and economic viability. Plant and Soil 249, 117-125.

**Robinson, N.J., Jackson, P.J., 1986.** "Metallothionein-like" metal complexes in angiosperms; their structure and function. Physiologia Plantarum 67, 499-506.

**Romero, J.M., 1992.** Análisis de Crecimiento y Alocación de Nutrientes en Respuesta a la Salinidad. Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla.

**Romero, J.M., Marañón, T., 1994.** Long-term responses of *Melilotus segetalis* to salinity. I. Growth and partitioning. Plant, Cell and Environment 17, 1243-1248.

**Romero, J.M., Marañón, T., Murillo, J.M., 1994.** Long-term responses of *Melilotus segetalis* to salinity. II. Nutrient absorption and utilization. Plant, Cell and Environment 17, 1249-1255.

**Romero, J.M., Marañón, T., 1996.** Allocation of biomass and mineral elements in *Melilotus segetalis* (annual sweetclover): effects of NaCl salinity and plant age. New Phytologist 132, 565-573.

**Römheld, V., Marschner, H., 1991.** Function of micronutrients in plants. En: Mortvedt J.J., Cox F.R., Shuman L.M., Welch R.M., (eds.). Micronutrients in Agriculture. SSSA Book Series no. 4. Soil Science Society of America, Inc. Madison, pp 297-328.

**Ross, S.M., 1994a.** Sources and forms of potentially toxic metals in soil-plant systems. En: Ross S.M., (ed.). Toxic Metals in Soil-Plant System. Wiley & Sons, Chichester, pp 3-25.

**Ross, S. M., 1994b.** Retention, transformation and mobility of toxic metals in soils. En: Ross, S. M., (ed.). Toxic Metals in Soil-Plant Systems, Wiley & Sons, Chichester, pp 63-152.

**Ruiz de la Torre, J., 2001.** Árboles y Arbustos de la España Peninsular. Coedición de la Fundación Conde del Valle de Salazar y Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.

**Sage, R.F., Pearcy, R.W., 1987.** The nitrogen use efficiency of  $C_3$  y  $C_4$  plants. I. Leaf nitrogen, growth and biomass partitioning in *Chenopodium album* and *Amaranthus retroflexus* (L). Plant Physiology 84, 954-958.

**Santamaría, J.M., Martín, A., 1998.** Influence of air pollution on the nutritional status of Navarra's forests, Spain. Chemosphere 36, 943-948.

**Sattelmacher, B., 2001.** The apoplast and its significance for plant mineral nutrition. New Phytologist 149, 167-192.

**Sawidis, T., Marnasidis, A., Zachariadis, J., Stratis, J., 1995.** A study of air pollution with heavy metals in Thessaloniki City (Greece) using trees as biological indicators. Environmental Contamination and Toxicity 28, 118-124.

**Sawidis, T., Chettri, M.K., Papaioannou, A., Zachariadis, G., Stratis, J., 2001.** A study of metal distribution from lignite fuels using trees as biological monitors. Ecotoxicology and Environmental Safety 48, 27-35.

**Saxena, P.K., Krishnaraj, S., Dan, T., Perras, M.R., Vettakkorumakankav, N.N., 1999.** Phytoremediation of metal contaminated and polluted soil. En: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J. (eds.). Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems. Springer-Verlag, Berlín, pp 305-329.

**Scheifler, R., Gomot-de Vaufléury, A., Badot, P.M., 2002.** Transfer of Cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa*: bioaccumulation and effects. Ecotoxicology and Environmental Safety 53, 148-153.

**Schneiter, A.A., Miller, J.F., 1981.** Description of sunflower growth stages. Crop Science 21, 901-903.

**Shaw, G., Bell, J.N.B., 1994.** Plants and radionuclides. En: Farago, M.E., (ed.). Plants and the Chemical Elements. Weinheim, VCH, pp 179-120.

**Shu, W.S., Ye, Z.H., Lan, C.Y., Zhang, Z.Q., Wong, M.H., 2001.** Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*. Environmental Pollution 120, 445-453.

**Siedlecka, A., Tukendorf, A., Skórzyńska-Polit, Maksymiec, W., Wójcik, M., Baszyński, T., Krupa, Z., 2001.** Angiosperms (Asteraceae, Convolvulaceae, Fabaceae and Poaceae; other than Brassicaceae). En: Prasad, M.N.V., (ed.).

Metals in the Environment. Analysis by Biodiversity. Marcel Dekker, Inc., Nueva York, pp 171-217.

**Siegel, R.F., 2002.** Environmental Geochemistry of Potentially Toxic Metals. Springer, Berlín.

**Simón, M., Ortiz, I., García, I., Fernández, E., Fernández, J., Dorronsoro, C., Aguilar, J., 1999.** Pollution of soils by the toxic spill of a pyrite mine (Aznalcóllar, Spain). The Science of the Total Environment 242, 105-115.

**Simón, M., Martín, F., Ortiz, I., García, I., Fernández, J., Fernández, E., Dorronsoro, C., Aguilar, J., 2001.** Soil pollution by oxidation of tailings from toxic spill of a pyrite mine. The Science of the Total Environment 279, 63-74.

**Sims, J.T., Johnson, G.V., 1991.** Micronutrient soil tests. En: Mortvedt J.J., Cox F.R., Shuman L.M., Welch R.M. (eds.). Micronutrients in Agriculture. Soil Science Society of America, Inc. Publ., Madison, pp 427-476.

**Singh, B.R., Steinnes, E., 1994.** Soil and water contamination by heavy metals. En: Lal, R., Stewart, A., (eds.). Soil Process and Water Quality. Advances in Soil Science. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, pp 233-271.

**Singh, N., Pandey, V., Misra J., Yunus M., Ahmad K.J., 1997.** Atmospheric lead pollution from vehicular emissions-measurements in plants, soil and milk samples. Environmental Monitoring and Assessment 45, 9-19.

**Smith, E., Naidu, R., Alston, A.M., 1998.** Arsenic in the soil environment: a review. Advances in Agronomy 64, 149-195.

**Soldevilla, M., Marañón, T., Cabrera, F., 1992.** Heavy metal content in soil and plants from a pyrite mining area in southwestern Spain. Communications in Soil Science and Plant Analysis 23, 1301-1319.

**Stolt, J.P., Oscarson, P., 2002,** Influence of cadmium on net nitrate uptake kinetics in wheat. Journal of Plant Nutrition 25, 2763-2774.

**Stolz, E., Greger, M., 2002.** Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings. Environmental and Experimental Botany 47, 271-280.

**Stott, D.E., Dick, W.A., Tabatabai, M.A., 1985.** Inhibition of pyrophosphatase activity in soils by trace elements. Soil Science 139, 112-117.

**Stratis, J.A., Zachariadis, G., Simeonov, V., Mandjukovl, P., Sawidis, T., 1996.** Chemometrical classification of biomonitoring analytical data for heavy metals. Part I. Trees (leaves) as bioindicators. *Toxicological and Environmental Chemistry* 54, 29-37.

**Sutter, II, G.W., Efroymsen, R.A., Sample, B. E., Jones, B.E., 2000.** Ecological Risk Assessment for Contaminated Sites. Lewis Publishers, Londres.

**Terry, N., Bañuelos, G., 2000.** Phytoremediation of Contaminated Soil and Water. Lewis Publishers, Londres.

**Thornton, I., 1995.** Metals in the Global Environment: Facts and Misconceptions. International Council on Metals and Environment (ICME), Ottawa.

**Tomlinson, D.L., Wilson, J.G., Harris, C.R., Jeffrey, D.W., 1980.** Problems in the assessments of heavy-metal levels in estuaries and formation of a pollution index. *Helgol. Meeresunters* 33, 566-575.

**Tyler, G., Balsberg Pahlsson, M., Bengtsson, G., 1989.** Heavy-metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates. *Water, Air and Soil Pollution* 47, 189-215.

**Ure, A.M., Quevauviller, P.H., Muntau, H., Griepink, B., 1993.** Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonisation of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 51, 135-151.

**Valdés, B., Talavera, S., Fernández-Galiano, E., (eds.), 1987.** Flora Vascular de Andalucía Occidental, Vol.3. Ketres, Barcelona.

**Van Assche, F., Clijsters, H., 1990.** Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell and Environment* 13, 195-206.

**Vandecasteele, B., De Vos, B., Tack, M.G., 2002.** Cadmium and Zinc uptake by volunteer willow species and elder rooting in polluted dredged sediment disposal sites. *The Science of the Total Environment* 299, 191-205.

*Van der Lelie, D., Schwitzguébel, J-P., Glass, D J., Vangronsveld, J., Baker, A., 2001.* Assessing phytoremediation's progress in the United States and Europe. *Environmental Science and Technology* 35, 447-452.

**Vangronsveld, J., Ruttens, A., Mench, M., Boisson, J., Lepp, N.W., Edwards, R., Penny, C., Van der Lelie, D., 2000.** In situ inactivation and phytoremediation



of soil metal- and metalloid-contaminated soils: field experiments. En: Wise, D.L., Trantolo, D.J., Cichon, E.J., Inyang, H.I., Stottmeister, U., (eds.). Bioremediation of Contaminated Soils. Marcel Dekker Inc., Nueva York, pp 859-884.

**Vassilev, A., Lindon, F.L., Matos, M.C., Ramalho, J.C., Yordanov, I., 2002.** Photosynthetic performance and content of some nutrients in Cadmium- and Copper-treated barley plants. *Journal of Plant Nutrition* 25, 2343-2360.

**Vázquez, F.M., 1998.** Semillas de Quercus: Biología, Ecología y Manejo. Junta de Extremadura, Consejería de Agricultura y Comercio, Badajoz.

**Vázquez, M.D., Poschenrieder, C., Barceló, J., 1992a.** Ultrastructural effects and localization of low cadmium concentrations in bean roots. *New Phytologist* 120, 215-226.

**Vázquez, M.D., Barceló, J., Poschenrieder, C., Mádico J., Hatton P., Baker A.J.M., Cope, G.H., 1992b.** Localization of zinc and cadmium in *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae), a metallophyte that can hyperaccumulate both metals. *Journal of Plant Physiology* 140, 350-355.

**Vázquez, M.D., Poschenrieder, C., Barceló, J., Baker, A.J.M., Hatton, P., Cope H.G., 1994.** Compartmentation of zinc in roots and leaves of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl. *Botanical Acta* 107, 243-250.

**Vidal, M., López-Sánchez, J.F., Sastre, J., Jimenez, G., Dagnac, T., Rubio, R., Rauret, G., 1999.** Prediction of the impact of the Aznalcóllar toxic spill on the trace element contamination of agricultural soils. *The Science of the Total Environment* 242, 131-148.

**Wagner, G.J., 1993.** Accumulation of Cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances in Agronomy* 51, 173-212.

**Wallace, A., Frolich, E., Lunt, O.R., 1966.** Calcium requirements of higher plants. *Nature* 209, 634.

**Weiss, P., Offenthaler, I., Öhlinger, R., Wimmer, J., 2003.** Higher plants as accumulative bioindicators. En: Markert, B., Breure, A.M., Zechmeister, H.G. (eds.). *Bioindicators & Biomonitors. Principles, Concepts and Applications*. Elsevier, Amsterdam, pp 465-500.

**Welbank, P.J., 1962.** The effects of competition with *Agropyron repens* and nitrogen- and water-supply on the nitrogen content of *Impatiens parviflora*. *Annals of Botany* 26, 361-373.

**Wenzel, W.W., Lombi, E., Adriano, D.C., 1999.** Biogeochemical processes in the rhizosphere: role in phytoremediation of metal-polluted sites. En: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J., (eds.). Heavy Metal Stress in Plants. From Molecules to Ecosystems. Springer-Verlag, Berlín, pp 273-303.

**Williams, R.F., 1948.** The effects of phosphorus supply on the rates of intake of phosphorus and nitrogen and upon certain aspects of phosphorus metabolism in gramineous plants. Australian Journal Science Research B1, 333-361.

**Winder, L., Merrington, G., Green, I., 1999.** The tri-trophic transfer of Zn from the agricultural use of sewage sludge. The Science of the Total Environment 229, 73-81.

**Wong, M.H., 2003.** Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. Chemosphere 50, 775-780.

**Wood Supply Research Group, 1997.** Short Rotation Forestry handbook. International Energy Agency, <http://www.abdn.ac.uk/wsrg/index.htm>.

**Wright, D.A., Welbourn, P., 2002.** Environmental Toxicology. Cambridge University Press, Cambridge.

**Wu, L., Antonovic, J., 1976.** Experimental ecological genetics in Plantago. II Lead tolerance in *Plantago lanceolata* and *Cynodon dactylon* from a roadside. Ecology 57, 205-208.

**Zantopoulus, N., Antoniou, V., Nikoladis, E., 1999.** Copper, Zinc, Cadmium, and Lead in sheep grazing in North Greece. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 62, 691- 699.

## **11. ANEXO FOTOGRÁFICO**

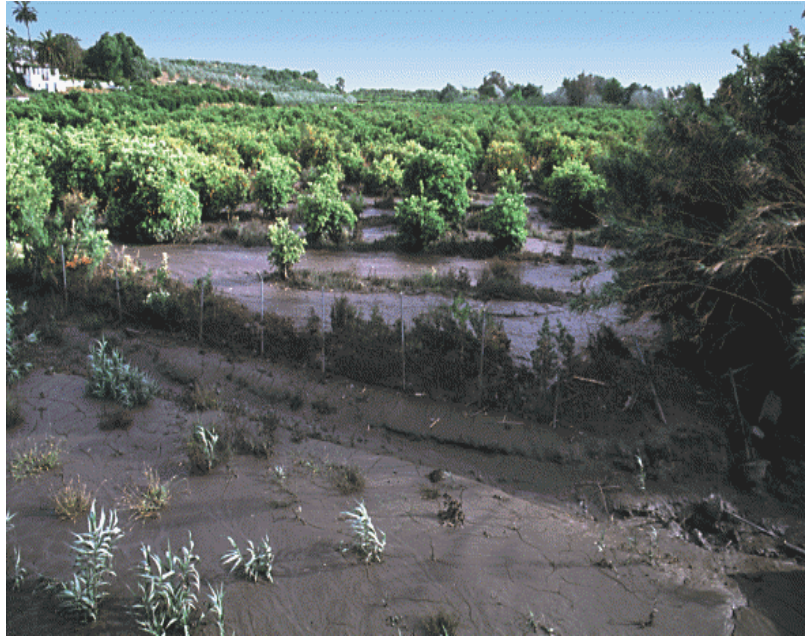


Rotura del muro de la balsa de decantación de la mina de "Los Frailes" en Aznalcóllar.



Detalle de la zona de rotura de la balsa minera varios días después del accidente.





Estado de algunos cultivos tras la avalancha de los lodos mineros.



Parcela acotada por la Consejería de Medio Ambiente, con fines experimentales, en la que no se retiraron los lodos. Detalle de los sulfatos derivados de la oxidación de la pirita (color blanco).



Grosor de la capa de lodo en algunas zonas afectadas.



Limpieza mecanizada en parcelas con cultivos herbáceos.



Limpieza mecanizada en parcelas con plantaciones de frutales.



Limpieza manual en taludes.





Suelos acumulados tras la limpieza antes de su traslado a la cota de la mina donde se han depositado los suelos afectados (zona de Soberbina).



Detalle de los lixiviados producidos, ricos en óxidos de hierro (color anaranjado).

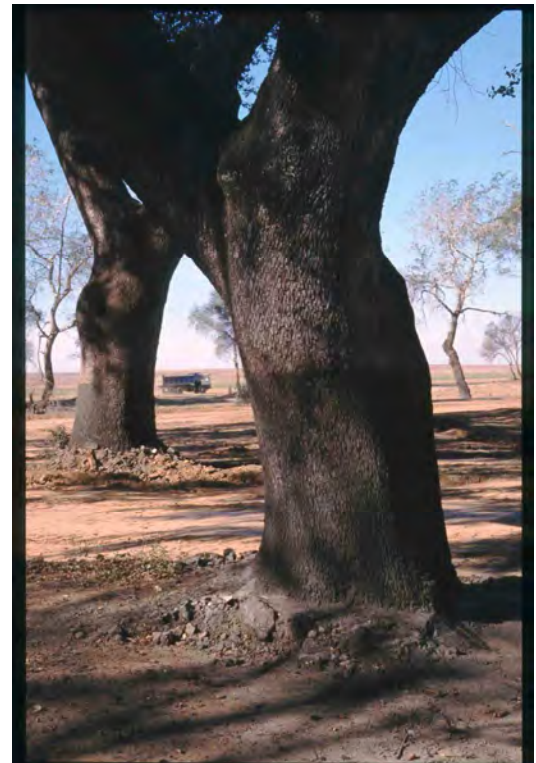


Zona de bosque de ribera de difícil acceso para la limpieza (Puente de las Doblas).





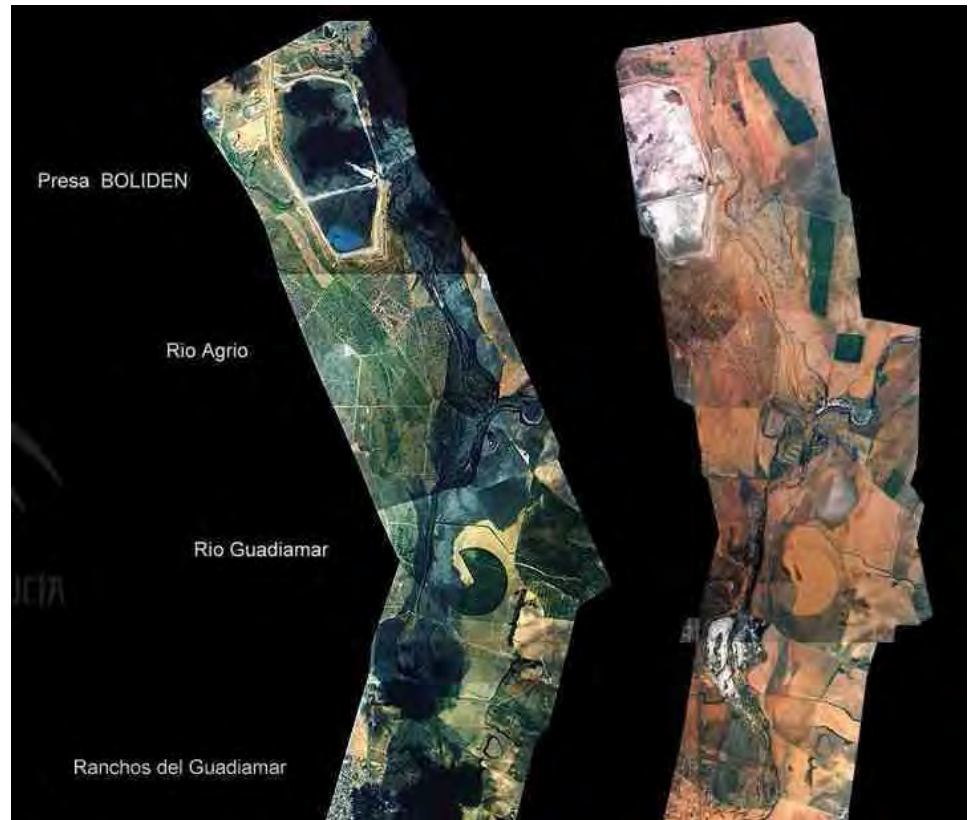
Grama creciendo sobre los lodos, fruto de su capacidad para tolerar altas concentraciones de metales en suelos.



Estado de algunos árboles (álamo blanco, izquierda, y encina, derecha) tras la riada de los lodos, una vez comenzadas las labores de limpieza. En los troncos de los árboles se puede apreciar la marca de los lodos.

**Agosto 1998**

**Abril 1998**



Vista aérea de la Cuenca del río Guadamar afectada por el vertido antes y después de las labores de limpieza (tomado de la Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía).

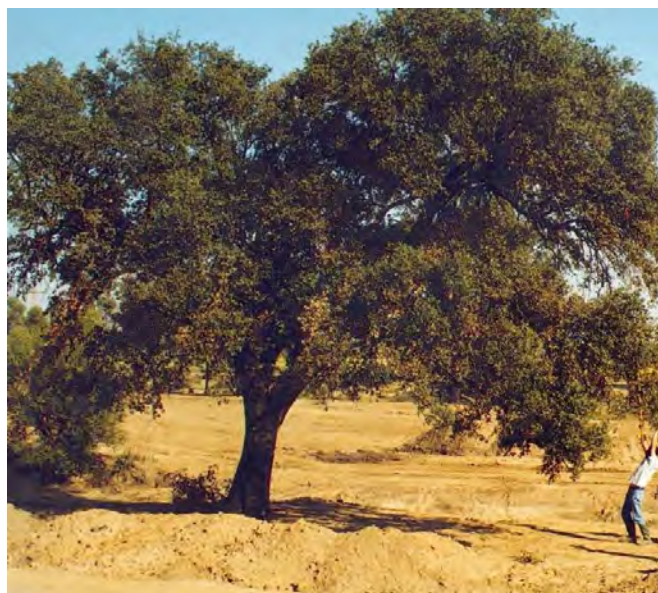




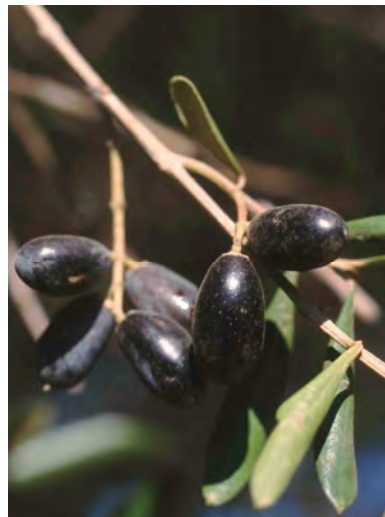
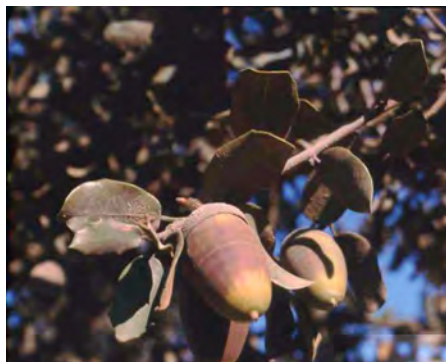
Grama creciendo sobre suelos limpiados y enmendados en el área de Aznalcázar.



Álamo blanco en la zona de Lagares una vez concluidas las labores de limpieza. Detalle del muestreo de las hojas y tallos.



Encina localizada en la zona de Soberbina afectada por vertido, una vez concluida la limpieza de los suelos.



Frutos de encina (arriba) y acebuche (derecha), en zonas afectadas por el vertido. En ambas imágenes se puede apreciar la deposición aérea de polvo atmosférico en hojas y frutos procedente de las polvaredas originadas por las labores de limpieza.



Girasol sobre los lodos, días después de la rotura de la balsa.



Girasol creciendo en una parcela afectada por el vertido, limpiada y enmendada, dos años después del vertido.





Estado de algunas parcelas del Corredor Verde que han sido reforestadas con especies vegetales propias de la zona (otoño 2002).

Acebuche, con tubo protector, en una de las parcelas reforestadas del Corredor Verde del Guadamar.

